

Kontraktilität retinaler Arteriolen
unter Sauerstoffatmung
bei diabetischer Retinopathie

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Dirk Sturmius Vollrath
geboren am 14. Dezember 1972 in Fulda

24. August 2004

Erster Gutacher: Privatdozent Dr. med. M. Blum, Erfurt

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. J. Strobel, Jena

Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. H. E. Völcker, Heidelberg

Tag der öffentlichen Verteidigung: Jena, den 1. März 2005

1. Abkürzungsverzeichnis

AGE	advanced glycation endproducts
cAMP	Cyclo-Adenosinmonophosphat
CCD	charge-coupled-device
CO ₂	Kohlendioxid
dia	diastolisch
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthetase
g	Gramm
HbA _{1c}	glykolysiertes Hämoglobin, Langzeitparameter der Blutzuckerstoffwechsellege
HIF	hypoxieinduzierter Faktor
HRF	Heidelberger-Retinal-Flowmeter
IOD	intraokulare Druck
IRMA	intraretinale mikrovaskuläre Anomalien
l	Länge
LDF	Laser-Doppler-Flowmetrie
LDV	Laser-Doppler-Velocimetrie
m	männlich
MAP	mittlerer arterieller Druck
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
µm	Mikrometer
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
OAD	orale Antidiabetika
OBF	Langham-Ocular-Blood-Flowmeter
π	Ludolphe Zahl, mathematische Konstante, $\pi \sim 3,142$

P	Partialdruck
PC	personal computer
PKC	Proteinkinase C
ΔP	Druckdifferenz
r	Radius, Gefäßradius
RR	Blutdruck
RVA	Retinal-Vessel-Analyzer
s	Sekunde
SLO	Scanning-Laser-Ophthalmoskopie
sys	systolisch
V	Flussstromstärke, Durchblutung
VEGF	vascular endothelial growth factor
VHS	video home system
w	weiblich
η	Viskosität der Flüssigkeit
♀	weiblich
♂	männlich

2. Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	3
2. Inhaltsverzeichnis	5
3. Zusammenfassung	8
4. Einleitung	9
4.1. Das Gefäßsystem des Auges	9
4.2. Die Autoregulation der Gefäße	14
4.3. Bisherige Untersuchungen zur Autoregulation von Blutgefäßen am Auge	15
4.4. Auswirkungen des Diabetes mellitus an den Augengefäßen	
4.4.1. Diabetes mellitus	17
4.4.2. Die Veränderungen des Diabetes mellitus am Auge	18
4.4.3. Die diabetische Retinopathie	20
5. Ziele der Arbeit	24
6. Methodik	26
6.1. Probanden	26
6.2. Versuchsablauf	28
6.2.1. Die Gerätetechnologie des „Retinal-Vessel- Analyzer“ (RVA)	28
6.2.2. Versuchsprotokoll	30
6.2.3. Statistische Auswertung	32
7. Ergebnisse	34
7.1. Ergebnisse der Gruppe 1 (Patienten mit Diabetes mellitus ohne Retinopathia diabetica)	34

7.2. Ergebnisse der Gruppe 2 (Patienten mit milder bis mäßiger Retinopathie)	37
7.3. Ergebnisse der Gruppe 3 (Patienten mit mäßiger bis schwerer nichtproliferativer diabetischen Retinopathie)	39
7.4. Ergebnisse der Gruppe 4 (Patienten mit proliferativer Form der diabetischen Retinopathie)	41
7.5. Gruppenvergleich	43
7.6. Korrelation zu Alter und HbA _{1c} -Wert-Einstellung	45
7.7. Blutdruck und Augeninnendruck	46
8. Diskussion	47
8.1. Gerätetechnologie zur Untersuchung der retinalen Hämodynamik	47
8.1.1. Gefäßweitenbestimmung mittels Fundusfotografie	47
8.1.2. Die Fluoreszenzangiografie	49
8.1.3. Die Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (SLO)	50
8.1.4. Die Laser-Doppler-Velocimetrie (LDV)	51
8.1.5. Die Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF)	52
8.1.6. Farbduplexsonografie	54
8.1.7. Langham-Ocular-Blood-Flowmeter (OBF)	56
8.1.8. Die Okulooszillodynamografie	57
8.1.9. Der Retinal-Vessel-Analyzer (RVA)	57
8.2. Die Autoregulation der retinalen Blutgefäße	60
8.2.1. Die Messung der retinalen Autoregulation	60
8.2.2. Einflussfaktoren auf die retinale Autoregulation und Provokationsmethoden	61
8.2.2.1. Intraokulare Druck	61
8.2.2.2. Blutdruckerhöhung	62
8.2.2.3. Blutglukosespiegel	64
8.2.2.4. Atemgasinhalation	64
8.2.2.4. Weitere Einflussfaktoren	65
8.2.3. Die Steuerung der retinalen Autoregulation	66
8.3. Mikrozirkulationsstörungen beim Diabetes mellitus	68
8.3.1. Pathogenese der diabetischen Retinopathie	68

8.3.2. Morphologische Korrelate zur diabetischen Retinopathie	73
8.4. Zuordnung der eigenen Befunde	74
9. Schlussfolgerungen	75
10. Literatur- und Quellenverzeichnis	76
11. Anhang	94
11.1. Danksagung	94
11.2. Ehrenwörtliche Erklärung	95

3. Zusammenfassung

Mit dem Retinal-Vessel-Analyzer (RVA) besteht die Möglichkeit, retinale Gefäße direkt und nichtinvasiv zu untersuchen. Dabei werden die Gefäßdurchmesser – online – erfasst und in Abhängigkeit vom Ort entlang des Gefäßabschnittes und in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt und analysiert.

Die Gefäßreaktion von Netzhautarteriolen bei Sauerstoffinhalation konnte an Normalprobanden bestätigt werden. Dabei wurde eine alterskorrelierte signifikante Abnahme der Kontraktilität der retinalen Arteriolen nachgewiesen.

Mittels Atmung von 100%-igen Sauerstoff soll in der vorliegenden Arbeit die Kontraktilität der retinalen Arteriolen bei an Diabetes mellitus erkrankten Personen in unterschiedlichen Stadien der diabetischen Retinopathie untersucht werden.

40 Patienten mit Diabetes mellitus wurden in 4 Gruppen mit unterschiedlichen Ausprägungen der diabetischen Retinopathie eingeteilt. Gruppe 1 (n = 12) umfasste Probanden ohne Retinopathie, Gruppe 2 (n = 8) mit milder, Gruppe 3 (n = 8) mit schwerer nichtproliferativer Retinopathie und Gruppe 4 (n = 12) Patienten mit einer proliferativen Retinopathia diabetica.

Mit dem RVA wurden die Gefäßdurchmesser retinaler Arteriolen in einer 3-minütigen Ausgangsphase erfasst und in einer darauf folgenden 5 Minuten andauernden Provokationsphase mit Sauerstoffatmung kontinuierlich die Gefäßreaktion gemessen. Gruppe 1 zeigte eine Vasokonstriktion von -6,2 ($\pm 4,0$) %, Gruppe 2 von -5,2 ($\pm 3,8$) % und Gruppe 3 von -6,7 ($\pm 6,8$) %. Bei Gruppe 4 wurde eine Vasodilatation von +2,6 ($\pm 5,7$) % gemessen.

Bei der Reaktion auf 100%-Sauerstoff-Atmung konnte zwischen den Stadien der nichtproliferativen diabetischen Retinopathie kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Beim Auftreten von Proliferationen ist eine Reduktion der Gefäßantwort nachweisbar.

4. Einleitung

4.1. Das Gefäßsystem des Auges

Als einer der Gründerväter der experimentellen Augenheilkunde beschrieb Theodor Leber schon 1865 die grundlegende Anatomie der Blutgefäße der Augen (Leber 1865). Die heutigen Erkenntnisse über die dreidimensionale Architektur der Mikrogefäße in den einzelnen Regionen des Auges stützen sich zudem auf die hauptsächlich in den 80er Jahren des vergangenen Jahrhunderts erhobenen Befunde der Rasterelektronenmikroskopie und der in vivo-Mikroendoskopie in Kombination mit Gefäßausgüssen.

Das Grundschemata der Durchblutung des Auges zeigt Abbildung 1.

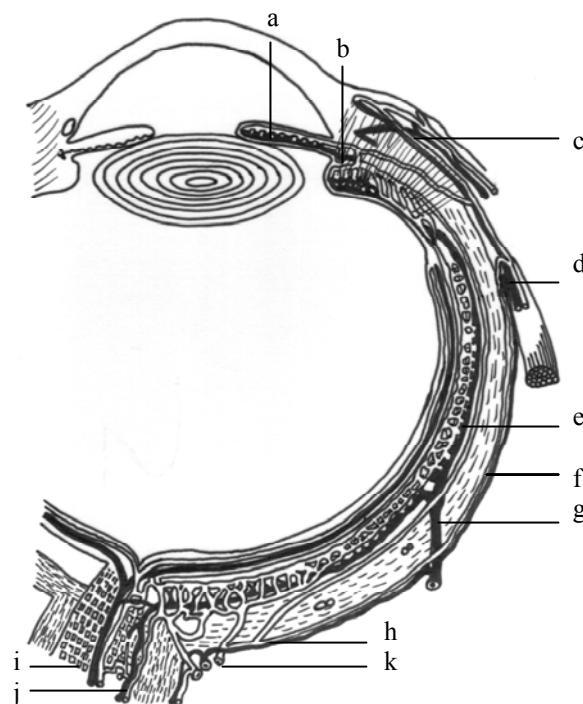


Abbildung 1 – Blutversorgung des Auges (modifiziert nach Hansen)

a – Circulus arteriosus minor iridis, b – Circulus Arteriosus major iridis, c – Konjunktivalgefäße, d – vordere Ziliargefäße, e – Chorioidea, f – Skleragefäße, g – Vortexvene, h – lange hintere Ziliararterie, i – retinale Gefäße, j – Piagefäße, k – kurze hintere Ziliararterie

Der arterielle Zufluss zum Auge kommt aus der Arteria ophthalmica, die den Augapfel, die Augenmuskeln, die Tränendrüse und anteilig die Nasenhöhle und Stirnhaut mit Blut versorgt. Sie zweigt als erster Ast auf dem Bogen der Arteria carotis interna ab, verläuft unter dem Nervus opticus durch den Canalis nervi optici meist mehr auf der nasalen Seite. In der Orbita bleibt sie innerhalb des Muskeltrichters und zieht lateral von unten um den Sehnerv und überkreuzt ihn etwa 1 cm hinter dem Bulbus medial.

Die Arteria ophthalmica teilt sich in zwei Systeme auf, die beide mit großer Variabilität (Hayreh 1962) aus ihr entstammen:

1. das uveale oder ziliare System (Ziliararterien) und
2. das retinale Gefäßsystem (über die Arteria centralis retinae).

Die wie ein Blutschwamm aussehende Uvea (Tunica vasculosa) ist die mittlere der zwiebelschalenartig übereinander liegenden Hüllen des Bulbus und grenzt innen an die Netzhaut (Retina) und nach außen hin an die Sklera bzw. die Vorderkammer. Sie gliedert sich in drei Gewebe auf, die morphologisch eine Einheit bilden: die Aderhaut (Chorioidea), die Regenbogenhaut (Iris) und der Strahlenkörper (Ziliarkörper, Corpus ciliare). Die Aufgabe dieser gefäßführenden Schicht erstreckt sich auf die Ernährung und Sauerstoffversorgung der Stäbchen- und Zapfenschicht der Netzhaut einschließlich des Pigmentepithels, die Regulierung des Lichteinfalles durch die Pupille sowie die Akkomodation und Kammerwasserbildung. Weitere Einzelheiten über Anatomie und Physiologie der Blutversorgung dieser Areale finden sich bei Funk (Funk 1995).

Da sich die vorliegende Arbeit mit Messungen an dem retinalen Gefäßsystem befasst, sollen die mit diesem zweiten System verbundenen anatomischen und histologischen Grundlagen genau beschrieben werden.

Die Arteria centralis retinae, dem ersten größten Ast der Arteria ophthalmica, tritt in der Regel 10-15 mm hinter dem Bulbus von unten her in den Sehnervstamm ein und gelangt mit ihm in das Augeninnere. Auf der Papille

teilt sie sich in einen oberen und in einen unteren Ast, die sich wiederum in jeweils einen nasalen und temporalen Ast verzweigen, um sich dann als Gefäßnetz weiter auszubreiten (Rohen 1964b). Die Verzweigungen der Zentralarterie lassen sich in vivo ophthalmoskopisch beobachten.

Die Arteria centralis retinae hat eine muskuläre Wand und ist somit eine echte Arterie. Die sekundären und tertiären Aufzweigungen jenseits des Sehnervs, also die großen Netzhautarterien, sind nach Bau und Größenordnung von etwa 50-200 μm den Arteriolen zuzuordnen und liegen gemeinsam mit dem inneren Kapillarnetz direkt unter der inneren Grenzmembran. Da die gesamten am Augenhintergrund sichtbaren Gefäße einen Durchmesser von weniger als 300 μm besitzen, gehören sie somit zum Gebiet der Mikrozirkulation (Gaethgens 1980).

Die retinalen Arteriolen sind im Gegensatz zu den Gefäßen der Chorioidea Endarterien, bilden also untereinander keine Anastomosen. Sie tauchen fast senkrecht in die Netzhautschicht ein und bilden mehrere Kapillarnetze (Kuwabara und Cogan 1963), reichen dabei bis an den Außenrand der inneren Körnerschicht bzw. bis zur sog. mittleren Grenzmembran und versorgen diesen Bereich. Den Schichtaufbau der Netzhaut verdeutlicht Abbildung 2.

Zur Peripherie der Retina nimmt die Kapillardichte von drei Schichten im Bereich des hinteren Pols auf zwei außerhalb des Makulagebietes bis hin zu einer Schicht in der peripheren Netzhaut ab (Naumann 1997).

Dazu kommt ein viertes, radiär zur Papille verlaufendes System, das ganz oberflächlich im Bereich der Nervenfasern liegt, das so genannte radiäre peripapilläre Kapillarnetz (Michaelson 1954, Henkind 1967).

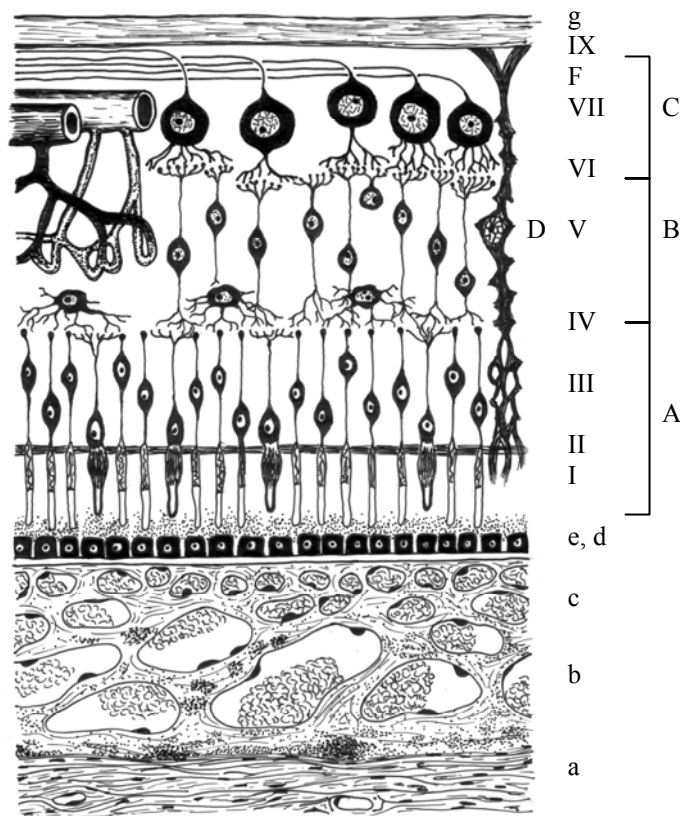


Abbildung 2 – Netzhautschichten (modifiziert nach Nasemann)

I – Stäbchen und Zapfen, II – Membrana limitans externa, III – äußere Körnerschicht, IV – äußere retikuläre Schicht, V – innere Körnerschicht, von den Netzhautgefäßen ernährt, VI – innere retikuläre Schicht, VII – Ganglienzellschicht, VIII – Nervenfaserschicht, IX – Membrana limitans interna, a – Sklera, b – Lamina vasculosa chorioideae, c – Choriokapillaris, d – Lamina vitrea, e – Pigmentepithel, f – Netzhautgefäße und Kapillaren, g – Glaskörper, A – Neuroepithelschicht 1. Neuron, B – 2. Neuron, C – 3. Neuron, D - Stützfaser

Die Retinagefäße enthalten im Gegensatz zu den Gehirngefäßen ab der Lamina cribrosa keine vegetativen Fasern, sondern werden ausschließlich durch intrinsische, in der Retina angesiedelte Mechanismen beeinflusst (Laties 1967).

Bei den Netzhautkapillaren findet man zwei Typen von Zellen, die der Basalmembran aufliegen und zahlenmäßig im gleichen Verhältnis zueinander vorliegen: Endothelzellen und murale Zellen, welche den Perizyten entsprechen (Ashton 1966). Die Endothelzellen kleiden das Lumen der Kapillaren lückenlos aus, bilden ihre Basalmembran und sind untereinander fest mit Zonula occludens verbunden. Diese Auskleidung ist Bestandteil der Blut-Retina-Schranke, besitzt einen nichtfenestrierten Charakter und verhindert

in intaktem Zustand das Austreten von größeren Molekülen (Naumann 1997). Auf der äußeren Basalmembran der Endothelzelle liegen diskontinuierlich Perizyten auf, eine Lamina elastica interna ist nicht vorhanden (Meves 1948). Nach außen hin lagern sich sowohl longitudinal als auch zirkulär angeordnete, von elastischen Fasern durchzogene, glatte Muskelzellen auf. Die Anzahl der Schichten differiert hierbei: in Papillennähe besteht die Tunica media aus fünf bis sieben, weiter peripher aus drei bis fünf Zellschichten (Hogan und Feeney 1963 a, b). Streckenweise fehlen die Muskelzellen komplett und die Wand besteht hier lediglich aus einem dünnen Mantel von kollagenen und elastischen Bindegewebe (Naumann 1997). Nach außen hin schließen sich adventitielle Zellen sowie die Lamina gliae perivascularis an. Die retinalen Gefäße weisen keine Sphinktere auf und stellen damit eine Ausnahme im System der Mikrozirkulation dar.

Aus dem Versorgungsgebiet der retinalen Arterien entspringen aus deren Kapillarzonen dementsprechend die retinalen Venen, deren Hauptäste in der Papille zum Stamm der Vena centralis retinae zusammenfließen. Die Vena centralis retinae verläuft durch den Nervus opticus und mündet in die Vena ophthalmica superior.

Nahezu die gesamte Blutmenge aus der vorderen und hinteren Uvea wird hingegen von vier – seltener von fünf bis sechs – Venae vorticosae, den Vortexvenen, abgeführt (Hollwich 1988). Lediglich die vorderen Ziliarvenen führen Blut aus dem Ziliarkörperbereich ab. Die Venae vorticosae durchsetzen dabei den Augapfel in schräger rückläufiger Richtung, um zwischen den geraden Augenmuskeln auszutreten.

Zusammen mit den Venen aus dem Stirn- und Nasenwurzelbereich münden sie in die Vena ophthalmica superior. In der Fissura orbitalis superior kommt es zur Vereinigung mit der Vena ophthalmica inferior und dann zum direkten Einstrom in den Sinus cavernosus.

4.2. Die Autoregulation der Gefäße

Als Autoregulation bezeichnet man die Fähigkeit eines Organs oder eines Gefäßbettes sich Blutdruck- oder Perfusionsdruckänderungen anzupassen und einen konstanten Blutfluss aufrecht zu erhalten, um damit einen gleich bleibenden Stoffwechsel zu gewährleisten. Zudem soll sie bei Änderungen des Stoffwechsels eine adäquate vermehrte oder verringerte Durchblutung des Organs bewerkstelligen.

Diese Steuerung ist die Summe eines Zusammen- oder Wechselspiels unterschiedlicher Mechanismen: myogen über eine direkte Reaktion der Gefäßwand auf Blutdruckänderungen, über lokalchemische Einflüsse von Stoffwechselprodukten, über zirkulierende und Gewebshormone, neurogen über perivaskuläre Nervenendigungen sowie ein direkter Einfluss von im Gefäßendothel gebildeten biochemischen Substanzen auf die glatte Muskulatur der Gefäßwand (Paulson et al. 1990). Beschrieben wird die Autoregulation in verschiedenen Organen, wie Gehirn (Paulson et al. 1990), Niere (Gilmore et al. 1980), Intestinaltrakt (Johnson 1968) und Skelettmuskel (Morff und Granger 1982).

Alle aufgeführten Mechanismen beeinflussen den Strömungswiderstand durch Änderung des Gefäßradius analog zum Hagen-Poiseuilleschem Gesetz:

$$V = \frac{\pi \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot l} \Delta P$$

Hierbei entspricht V der Stromstärke (Durchblutung), ΔP der Druckdifferenz, r dem Radius, η der Viskosität und l der Länge. Die wesentliche Aussage dieser Gleichung ist, dass bei einer gegebenen Druckdifferenz ΔP die Höhe der Durchblutung vor allem von der vierten Potenz des Gefäßradius bestimmt wird. Die glatte Muskulatur der Gefäßwände als Stellglied der Durchblutung erhält dabei besonderer Bedeutung.

Die Netzhautgefäße gehören vollständig zur Mikrozirkulation (Gaethgens 1980). Das Hagen-Poiseuillesche Gesetz gilt hier nur eingeschränkt, doch konnte man in Studien feststellen, dass die Stromstärke der kleinen Blutgefäße ebenso weitgehend abhängig von der vierten Potenz des Gefäßradius ist. Die Gefäßdurchmesser sind einerseits Stellglieder der lokalen Regulationsmechanismen, andererseits auch Angriffsort altersbedingter, pathologischer und therapeutischer Wirkungen.

4.3. Bisherige Untersuchungen zur Autoregulation von Blutgefäßen am Auge

Das retinale Gefäßsystem hat eine effiziente Autoregulation, die Blutströmung in den Kapillaren ist nicht nur sehr schnell (3,3 mm/s) (Wolf et al. 1991) und die Blutflussmenge niedrig (bis 1,7 ml/min/g Gewebe) (Alm und Bill 1987), sondern die hohe arterio-venöse Sauerstoffdifferenz von 38% (Hickam et al. 1963) birgt nur eine geringe Reservekapazität. Am uvealen Gefäßsystem konnte zunächst keine messbare Autoregulation festgestellt werden (Friedmann und Smith 1965), mittlerweile wurden auch in diesem Gefäßbett autoregulative Mechanismen erforscht.

Wegen der Invasivität und des gerätetechnischen Aufwands vieler Messmethoden ist die Anzahl der Studien an menschlichen Probanden limitiert. Bisher konnte sich keine hämodynamische Messmethodik in der klinischen Routine durchsetzen.

Die Fundusfotografie als bisherige Methode lieferte lediglich Momentaufnahmen, war bei der Auswertung von Bildsequenzen eher zeitaufwendig und führte bei den Gefäßvermessungen zu hohen Streuungen.

Eine Verbesserung brachte die Laser-Doppler-Technik (Riva et al. 1986), die die Blutflussgeschwindigkeit, nicht jedoch die Gefäßweite als eigentliches autoreglatives Stellglied, erfasste.

Eine schnelle und für die Patienten nicht invasive Methode der Gefäßweitenmessung stellt der in den Jahren 1992-1996 in Jena entwickelte „Retinal-Vessel-Analyzer“ (RVA) dar (Vilser et al. 1996) dar, mit dem man direkt und online Daten von retinalen Gefäßdurchmesser in Abhängigkeit von Zeit und Ort und unter Einfluss verschiedenster Noxen erhalten kann.

So konnte an retinalen Gefäßen von Normalprobanden der „Bayliss-Effekt“ als myogene Antwort der glatten Gefäßmuskulatur auf Blutdrucksteigung (Blum et al. 1999) in vivo nachgewiesen werden. Weitere Studien zu diesem Thema zeigten, dass das Lebensalter einen Einfluss auf die myogene Antwort der retinalen Gefäße hat. Unterschiede bezüglich des Geschlechts konnten nicht nachgewiesen werden (Blum et al. 2000).

In einer anderen Arbeit am RVA konnte die negative Beeinflussung der myogenen Antwort durch einen erhöhten Blutglukosespiegel bei Normalprobanden gezeigt werden (Brändel 2003).

Nikotin, sowohl inhaliert durch Zigarettenrauch (Bachmann et al. 1998) als auch intranasal appliziert (Bachmann et al. 1999), führte in Studien an Untersuchungen der Autoregulation retinalen Gefäßen zu einer Vasokonstriktion.

Auch beim Vergleich einer Personengruppe, die an Diabetes mellitus erkrankt war, mit einer strukturgleichen Gruppe Normalprobanden („matched pairs“), konnte bei gleicher Blutdrucksteigerung eine signifikant schlechtere myogene Gefäßreaktion bei den Diabetikern bewiesen werden, wobei weder die Diabetesdauer noch die Höhe des HbA_{1c}-Wertes korrelierten (Blum et al. 2000).

Die Messung der Blutdrucksteigerung durch isometrische Belastung - „Bayliss-Effekt“ - ist regelhaft möglich, aber von der methodischen Durchführung auch aufwendig, fehlerbehaftet und für den Probanden bzw. Patienten belastend.

Daher wurde nach einfacheren Provokationsverfahren gesucht.

Viele Versuche zur Autoregulation wurden mit veränderten Atemgasgemischen durchgeführt. Messverfahren zu Gefäßweitenänderungen durch Inhalation von CO₂ sind neben der Fundusfotografie auch die modernere Lasertechnik und die Duplexsonografie am Auge (Arend et al. 1994b, Harris et al. 1995, Schüttauf et al. 1998).

Mittels des RVA lassen sich sowohl unter Sauerstoffatmung als auch unter Carbogenatmung signifikante Gefäßweitenänderungen auslösen und messen (Lang et al. 1998).

Diese Methode ist wenig aufwendig und nichtinvasiv, der Proband wird nicht belastet und die Gefäßreaktion ist gesichert, sodass die Atemgasinhalation in Kombination mit der Gefäßweitenmessung mittels RVA eine Alternative zur Provokation durch Blutdrucksteigerung darstellt.

Studien, die der hier vorliegenden Arbeit vorausgingen, zeigten an gesunden Probanden bei Inhalation reinen Sauerstoffs eine alterskorrelierte Vasokonstriktion der retinalen Gefäße (Blum et al. 2001).

4.4. Auswirkungen des Diabetes mellitus an den Augengefäßen

4.4.1. Diabetes mellitus

Der Begriff Diabetes mellitus beschreibt eine Gruppe von Stoffwechselstörungen, die primär durch eine Hyperglykämie als Folge einer gestörten Insulinproduktion oder gestörten Wirkung des Insulins oder beidem gekennzeichnet sind. Der Anstieg der Blutglukose führt zur Entwicklung von Abnormitäten im Kohlenhydrat-, Protein – und Fettstoffwechsel. Längerfristig können zusätzliche Komplikationen als Ergebnis einer Dysfunktion sowie des Versagens vieler Organsysteme, insbesondere an Blutgefäßen (Mikroangiopathie, Makroangiopathie) und Nervensystem (Neuropathie), auftreten.

Die zwei Hauptformen des Diabetes mellitus sind der Typ 1, früher auch als insulinabhängiger Diabetes mellitus (IDDM) bezeichnet, und der Typ 2, früher auch nichtinsulinabhängiger Diabetes mellitus (NIDDM). Es wird angenommen, dass bis zu 90 % der diabetischen Patienten dem Typ 2-Diabetes zuzuordnen sind und bis zum Jahr 2010 mehr als 215 Millionen Patienten weltweit betroffen sein werden (McCarty und Zimmet 1994). Die Prävalenz dieser Volkskrankheit in Deutschland beträgt annähernd 7 % (Hauner et al. 2003).

4.4.2. Veränderungen des Diabetes mellitus am Auge

Neben der Retinopathia diabetica, als die dominierende Augenerkrankung bei Patienten mit Diabetes mellitus, können zahlreiche andere charakteristische Folgeerscheinungen am Sehorgan, die im Zusammenhang mit der diabetischen Stoffwechsellaage stehen, auftreten.

Mögliche Diabetes-Krankheitszeichen der Augenlider sind Chalazia, Hordeola, Xanthelasma und Blepharitiden. An der Kornea können sich Erosionen, Ulzerationen, Eintrübungen oder Perforationen manifestieren. Gefäßektasien finden sich an der Konjunktiva und Sklera (Sachsenweger 1994).

Glykogeneinlagerungen in die Iris kann die Motilität der Pupille vermindern und zu einer relativen Miosis führen. Dieses geschieht auch bei einer durch die ischämische Retinopathie ausgelösten Rubeosis iridis. Durch Gefäßproliferationen im Kammerwinkel kann ein Neovaskularisationsglaukom entstehen (Hansen 1997).

Bei starkem Anstieg oder Abfall der Blutglukosekonzentration kann es über osmotische Effekte zu einer Wasserein- oder Auslagerung der Linse kommen, die zu Refraktions- und damit zu Visusänderungen führen können. Bei jugendlichen Diabetikern mit einer schlecht eingestellten Stoffwechsellaage kann man Linsentrübungen, die Cataracta diabetica, beobachten. Unabhängig

davon tritt bei Patienten mit Diabetes der Altersstar, Cataracta senilis, frühzeitig auf als bei gesunden Personen (Hollwich 1988).

Im Rahmen der diabetischen Neuropathie können Schielstellungen und Doppelbilder auftreten, ausgelöst durch kleine Infarkte der Augenmuskelnervenkerne oder der die Augenmuskeln versorgenden Hirnnerven. Optikusatrophen können direkte Folge einer bestehenden Neuropathie sein, oftmals aber auch Folge einer Mikrozirkulationsstörung des Sehnerven (Inoue et al. 1997).

Man unterteilt die diabetischen Gefäßschäden in eine

- diabetesspezifische Mikroangiopathie und in die
- unspezifische Makroangiopathie, zu der laut den internistischen Lehrbüchern die sich entwickelnde stenosierende Arteriosklerose der großen epikardialen Koronararterien, die periphere arterielle Verschlusskrankung und die arterielle Verschlusskrankheit der Hirnarterien gezählt wird.

Die diabetische Mikroangiopathie manifestiert sich klinisch als Retinopathie, Neuropathie, Nephropathie (Glomerulosklerose) und als „small vessel disease“ am Herzen im Sinne einer Mikroangiopathie der intramuralen kleinen Koronararterien (Herold 2003).

Die diabetische Makulopathie ist bei Patienten mit einem Typ-2-Diabetes in den Industrienationen die häufigste Erblindungsursache. Sie wird in die

- fokale Form,
- diffuse Form und
- ischämische Form

unterteilt (Bresnick 1986).

Die fokale Form, das klinisch signifikante Makulaödem, weist im Bereich des hinteren Augenpols als Folge der Gefäßschädigung umschriebene Ödemzonen auf, kombiniert mit intraretinalen Blutungen und harten Exsudaten.

Stärker ausgeprägt ist die diffuse Form: massive Blutgefäßleckagen, diffuse Flüssigkeitsverteilung und harte Exsudate.

Kapilläre Gefäßverschlüsse führen zur ischämischen Makulopathie, die durch einen völligen Untergang des perifovealen Kapillarnetzes mit Absterben der Fotorezeptoren der Makula gekennzeichnet ist.

4.4.3. Die diabetische Retinopathie

Die diabetische Retinopathie ist mit der Makulopathie die häufigste Folgeerkrankung des Diabetes mellitus. Bei Typ-2-Diabetikern findet sich schon zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in bis zu 36 % der Fälle eine Retinopathie (UKPDS-Group 1998). Etwa 2 % aller Diabetiker erblinden an ihr, in Deutschland wird die Zahl der Neuerblindungen pro Jahr auf 4.000 geschätzt (Standl und Willms 1995).

Die Stadieneinteilung der diabetischen Retinopathie erfolgt anhand der Richtlinien, wie sie von der Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group (ETDRS-Group 1991) verwendet und durch die Initiative „Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen“ (IFDA 1994) empfohlen wurde. Danach wird zwischen einer

- milden nichtproliferativen diabetischen Retinopathie,
- mäßigen nichtproliferativen diabetischen Retinopathie,
- schweren nichtproliferativen diabetischen Retinopathie und einer
- proliferativen Retinopathie

unterschieden.

Bei der milden nichtproliferativen Retinopathieform sind erste mit dem Fluoreszenzangiogramm sichtbare Kennzeichen Mikroaneurysmen, die in sämtlichen Netzhautarealen, besonders aber im Makulabereich und lateral davon, entstehen können. Abbildung 3 zeigt dieses Stadium.



Abbildung 3 – Milde nichtproliferative Retinopathie mit Mikroaneurysmen und kleinen Blutungen im Makulabereich (aus Kanski JJ, Hrsg. Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag. 1999)

Eine Zunahme der Zahl der Mikroaneurysmen ist ein Vorbote für das Auftreten weitergehender Veränderungen, die die mäßige Retinopathie beschreiben: intraretinale Blutungen, vereinzelte „Cotton-wool-Herde“ als Ausdruck präterminaler Arteriolenverschlüsse, harte Exsudate und venöse Kaliberschwankungen.

Ab der schweren nichtproliferativen Retinopathie sind die pathologischen Veränderungen nicht mehr reversibel: zahlreiche Mikroaneurysmen und intraretinale Blutungen in allen vier Quadranten, oder perlschnurartige Venen in zwei Quadranten, oder intraretinale mikrovaskuläre Anomalien (IRMA) in einem Quadrant (so genannte „4 – 2 – 1 – Regel“). Abbildung 4 soll dieses Stadium verdeutlichen.

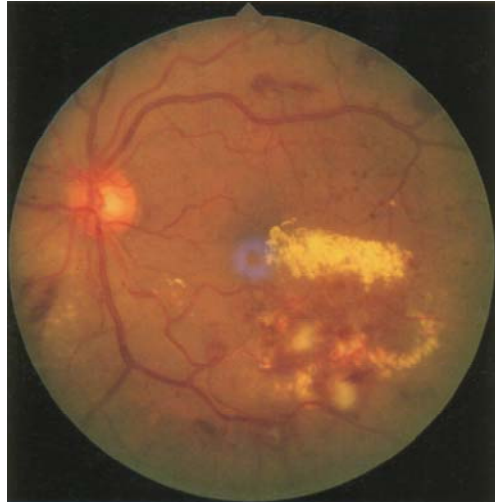


Abbildung 4 – Schwere nichtproliferative Retinopathie mit Mikroaneurysmen, intraretinalen Blutungen und Beteiligung der Makula durch große Plaque eines harten Exsudats (aus Kanski JJ, Hrsg. Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag. 1999)

Alle beschriebenen Veränderungen kennzeichnen das Bild der nichtproliferativen Retinopathia diabetica. Es kommt nur dann zu einer Visusminderung, wenn die Fovea direkt in eine Blutung oder häufiger in ein Ödem miteinbezogen ist.

Die proliferative Retinopathie manifestiert sich in Form von Neovaskularisationen, die aus der Papille oder aus großen Netzhautgefäßen entspringen, zunächst im Netzhautniveau bleiben, später aber in den präretinalen Raum vordringen. Gefäßneubildungen der Netzhaut oder Papille führen meist zu Glaskörperblutungen, einer inkompletten hinteren Glaskörperabhebung und über die Bildung fibrovaskulärer Stränge zwischen abgehobenem Glaskörper und Netzhaut zur Entstehung einer traktionsbedingten Netzhautablösung, die in eine Erblindung münden kann. Abbildung 5 zeigt retinale Neovaskularisationen außerhalb der Papille, Abbildung 6 an der Papille. Neovaskularisationserscheinungen im vorderen Augenabschnitt führen zu einer Rubeosis iridis, die wiederum ein Neovaskularisationsglaukom bedingen kann.

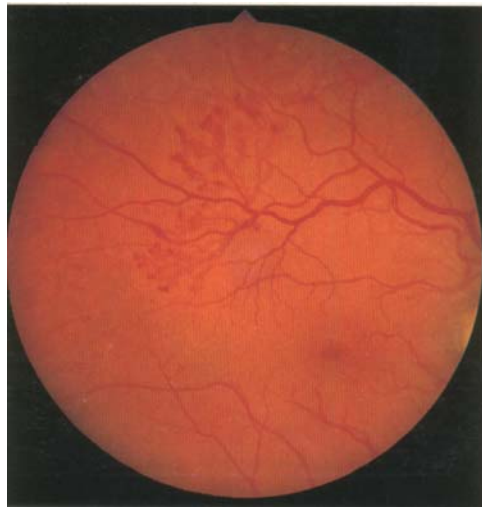


Abbildung 5 – Großes Areal von Neovaskularisationen außerhalb der Papille bei proliferativer diabetischer Retinopathie (aus Kanski JJ, Hrsg. Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag. 1999)



Abbildung 6 – Ausgedehnte Neovaskularisationen an der Papille bei proliferativer diabetischer Retinopathie mit einem hohen Risiko eines Sehverlustes (aus Kanski JJ, Hrsg. Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag. 1999)

5. Ziele der Arbeit

Der Diabetes mellitus ist eine erbliche chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht. Die Prävalenz dieser Volkserkrankung in Deutschland beträgt schätzungsweise 7 % mit einem Gipfel von 21.6 % in der Altersklasse der 70 – 75jährigen (Hauner et al. 2003). Durch die ansteigende Diabetesprävalenz infolge Überernährung, Bewegungsarmut und Überalterung der Bevölkerung wird der Diabetes mellitus zu einem führenden Gesundheitsproblem im Europa des 21. Jahrhunderts.

Der Anstieg des Blutzuckers führt zur Entwicklung von Abnormitäten im Kohlenhydrat-, Protein- und Fettstoffwechsel. Längerfristig können zusätzliche diabetesspezifische Komplikationen als Ergebnis einer Dysfunktion sowie des Versagens vieler Organsysteme auftreten: Nephropathie, Retinopathie, Neuropathie und Angiopathie.

Die Retinopathia diabetica ist in den heutigen Industrienationen die häufigste Erblindungsursache der Altersgruppe zwischen 20 und 74 Jahren (Klein et al. 1989). Etwa 2 % aller Diabetiker erblinden an ihr; in Deutschland wird die Zahl der Neuerblindungen pro Jahr auf 4.000 geschätzt (Standl und Willms 1995). Praktisch alle Typ-1-Diabetiker und der größte Anteil der Typ-2-Diabetiker erkranken im Laufe ihres Lebens an einer Form der diabetischen Retinopathie.

Mit dem Retinal-Vessel-Analyzer (RVA) steht seit 1996 ein Gerät zur Verfügung, mit dem eine nichtinvasive Online-Untersuchung von retinalen Gefäßdurchmessern möglich ist (Blum et al. 1997). Mehrere Versuchsabläufe, die eine Veränderung der Gefäßweite von retinalen Arteriolen provozieren, wurden bereits an gesunden Probanden getestet. In einer Studie konnte eine Vasokonstriktion als Antwort auf Blutdruckerhöhung durch isometrische Belastung („Bayliss-Effekt“) festgestellt werden (Blum et al. 1999). In darauf

folgenden Untersuchungen wurde gezeigt, dass Diabetiker im Vergleich zu Gesunden eine signifikant geringere myogene Antwort bei gleicher Blutdrucksteigerung aufweisen (Blum et al. 2000). Die Messung der Blutdrucksteigerung durch isometrische Belastung - „Bayliss-Effekt“ - ist regelhaft möglich, aber von der methodischen Durchführung aufwendig, fehlerbehaftet und für den Probanden bzw. Patienten belastend.

Daher wurde nach einfacheren Provokationsverfahren gesucht. Wie bereits erwähnt wurden etliche Versuche zur Autoregulation mit veränderten Atemgasgemischen durchgeführt. Messverfahren zu Gefäßweitenänderungen durch Inhalation von CO₂ sind neben der Fundusfotografie auch die modernere Lasertechnik und die Duplexsonografie am Auge (Arend et al. 1994b, Harris et al. 1995, Schüttauf et al. 1998).

Mit der Technologie des RVA lassen sich sowohl unter Sauerstoffatmung als auch unter Carbogenatmung signifikante Gefäßweitenänderungen auslösen und messen (Lang et al. 1998).

Die Provokationsmethode mittels Sauerstoffinhalation ist wenig aufwendig und nichtinvasiv, der Proband wird nicht belastet und die Gefäßreaktion ist gesichert, sodass die Atemgasinhalation in Kombination mit der Gefäßweitenmessung mittels RVA ein Alternative zur Provokation durch Blutdrucksteigerung darstellen.

Eine RVA-Pilotstudie, die der hier vorliegenden Arbeit vorausging, zeigte eine alterskorrelierte Verlagerung der Gefäßreaktion bei Provokation durch Sauerstoffinhalation: während bei den jüngeren Probanden eine deutliche Vasokonstriktion eintrat, zeigten die Gefäße von älteren Probanden eine signifikant abgeschwächte Reaktion (Blum et al. 2001).

In dieser Studie soll an Patienten mit Diabetes mellitus eine Differenzierung des Krankheitsbildes bzw. der unterschiedlichen Stadien der diabetischen Retinopathie anhand der Gefäßantwort auf Sauerstoffprovokation versucht werden.

6. Methodik

6.1. Probanden

Im Vorfeld der Untersuchungen wurde zu dem Versuchsablauf die Zustimmung der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter Vorlage der Beschreibung des Versuchsablaufes, der Probandenaufklärung sowie der Abbruchkriterien gemäß der Deklaration von Helsinki eingeholt.

Insgesamt 40 Patienten mit Diabetes mellitus und einem Durchschnittsalter von 50,1 ($\pm 12,2$) Jahren nahmen freiwillig an dem Versuch teil. Von der Gruppe waren 18 weiblichen und 22 männlichen Geschlechts.

Alle Probanden wurden in vollem Umfang über die Versuchsanordnung und mit dem Hinweis darauf aufgeklärt, jederzeit und ohne Begründung den Versuch abbrechen zu können.

Als Einschlusskriterien wurde ein bestehender Diabetes mellitus und die internistische Datenbasis definiert. Erfragt wurden neben der Zeitdauer der Diabeteserkrankung, des Diabetestyps und der Diabeteseinstellung auch andere Allgemeinerkrankungen und die Medikamenteneinnahme, insbesondere die Therapie mit oralen Antidiabetika oder Insulin. Bei allen Patienten wurde vor der Messung der aktuelle HbA_{1c}-Wert als Langzeitparameter der Blutzuckerstoffwechsellage ermittelt.

Als Einschränkung durften die Probanden vier Stunden vor der Messung weder rauchen noch Koffein zu sich nehmen. Auch das Bewältigen körperlicher Belastungen unmittelbar vor dem Versuch sollte vermieden werden.

Als Ausschlusskriterien galten neben einer bestehenden Katarakt, eines Glaukoms und einer Pseudophakie auch vaskuläre Erkrankungen und operative Interventionen am Auge.

Vor dem Versuch wurde im Rahmen der augenärztlichen Vorstellung eine Anamnese inklusive Medikamentenerfragung, Sehschärfenbestimmung, Augendruckmessung, Spaltlampenuntersuchung sowie direkter und indirekter Fundusspiegelung erhoben. Die Pupille wurde dabei mit einem nicht vasoaktiven Mydriatikum (Tropicamid) maximal erweitert. Unmittelbar nach der Messung wurde der Augeninnendruck nochmals bestimmt.

Anhand des retinologischen Befundes wurden die Probanden nach den Richtlinien der „Initiativgruppe Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen“ (IDFA) (Lemmen et al. 1997) in vier Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: Patienten ohne retinale Veränderungen im Sinne einer diabetischen Retinopathie.

Diese Gruppe umfasste 12 Probanden, davon 6 weibliche und 6 männliche.

Gruppe 2: Patienten mit milder bis mäßiger diabetischen Retinopathie, die keine Lasertherapie benötigen.

Gruppe 2 bestand aus 8 Patienten, davon waren 2 weiblich und 6 männlich.

Gruppe 3: Patienten mit mäßiger bis schwerer nichtproliferativer diabetischen Retinopathie, die einer Lasertherapie unterzogen werden mussten.

Die Gruppe 3 umfasste 8 Probanden, 3 weibliche und 5 männliche Personen.

Gruppe 4: Patienten mit proliferativer Form der diabetischen Retinopathie.

Die 12 Patienten, die dieser Gruppe zugeteilt wurden, bestanden aus 7 weiblichen und 5 männlichen Probanden.

6.2. Versuchsablauf

6.2.1. Die Gerätetechnologie des „Retinal-Vessel-Analyzer“ (RVA)

Der Retinal-Vessel-Analyzer (RVA, Firma IMEDOS[®], Jena, dargestellt in der Abbildung 7) ist ein Arbeitsplatz, mit dem die retinalen Astgefäße direkt und nichtinvasiv in vivo und deren Autoregulation untersucht werden können. Er erfasst und analysiert die Gefäßdurchmesser online in Abhängigkeit von der Zeit und zugleich in Abhängigkeit vom Ort entlang eines größeren Gefäßabschnittes. In mehreren klinischen Studien (Vilser et al. 1996, Blum et al. 1997) wurde es schon mit Erfolg eingesetzt.

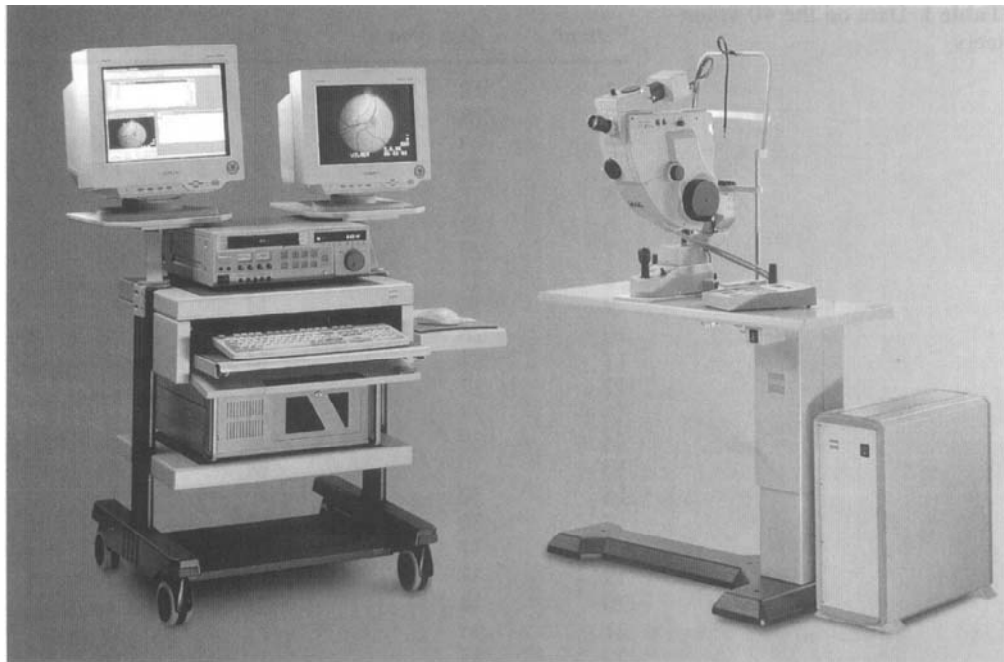


Abbildung 7 – Foto des Retinal-Vessel-Analyzers (mit freundlicher Genehmigung der Firma IMEDOS[®])

Die vom RVA ermittelten Gefäßdurchmesser im Orts- und Zeitverlauf stellen die Datenbasis dieser Arbeit dar. In diesem Abschnitt sollen nun der RVA-Aufbau und dessen Funktionsweise genauer dargestellt werden.

Der Messplatz des RVA besteht aus den in der Abbildung 8 dargestellten Elementen: einer Funduskamera (FF 450, Carl Zeiss, Jena), einer an die Funduskamera angesetzten CCD-Kamera, einem Monitor für das von der Funduskamera erzeugten Bildes (Fundusmonitor), einem VHS-Videorekorder (Panasonic AG-7335), einer Rechneinheit mit Tastatur und Maus und einem zweiten Rechnermonitor.

Zudem werden Daten eines Personen-Überwachungsgerätes (Dinamap[®] TM plus der Firma Critikon für EKG, Blutdruck, Pulsoxymeter) in die laufende Messung integriert.

Das mit der Funduskamera eingestellte Netzhautbild wird mit einer CCD-Kamera aufgenommen und auf den Fundusmonitor übertragen. Auf den zu analysierenden Gefäßast, der einen Durchmesser zwischen 60 – 300 µm haben sollte, wird nun unter Sichtkontrolle ein Messfenster platziert.

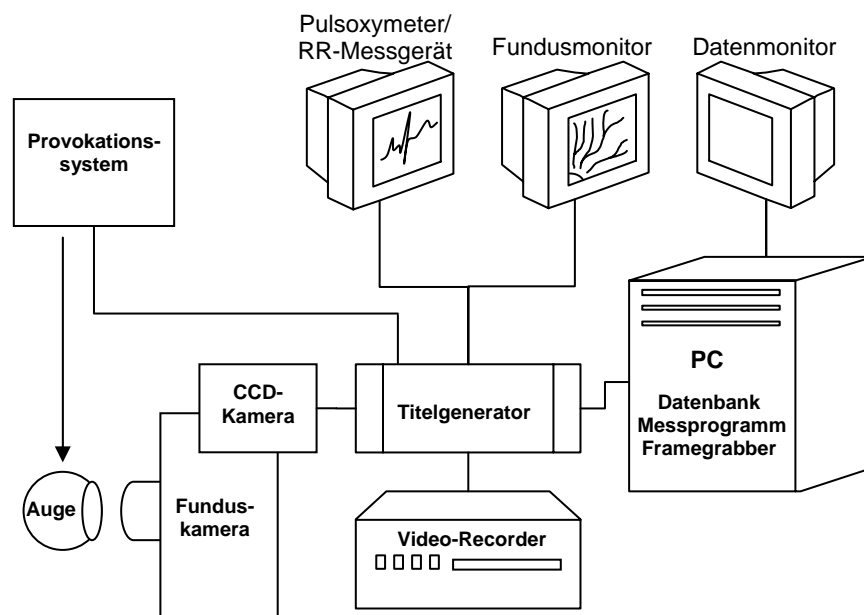


Abbildung 8 – Der Retinal-Vessel-Analyzer. Schematische Darstellung der Geräte- und Softwareeinheiten.

Aus dem Signal der CCD-Kamera wird die für die Untersuchung vorgesehene Messbildabfolge digitalisiert, durch die Rechneinheit der Gefäßdurchmessers entlang des Ortes und in Abhängigkeit von der Zeit direkt ausgewertet und auf dem Datenmonitor dargestellt. Die Videoaufzeichnung archiviert die Fundusbildfolge und dient damit zu späteren Kontrollmessungen. Bei optimaler Bildqualität werden bis zu 25 Einzelmessungen der Gefäßweite pro Sekunde erzeugt, was zu einer hohen Messwertedichte führt.

Dies ermöglicht dem Untersucher die Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen und Konfidenzintervallen über einen vorher bestimmten Messzeitraum. Die in der Gerätesoftware integrierte Fehlerüberwachung führt zu einer hohen Messgenauigkeit (Vilser 1996). Die Reproduzierbarkeit und Sensitivität der RVA-Messergebnisse wurden durch Studien belegt (Polak et al. 2000, Seifert und Vilser 2002).

6.2.2. Versuchsprotokoll

Nach Herstellung einer maximalen Pupillenerweiterung mittels einem nicht vasoaktivem Mydriatikum (Tropicamid) wurde der Patient mindestens eine Minute der Exposition des Messlichtes ausgesetzt und dabei die Netzhaut des zu untersuchenden Auges bei zentrischer Pupillenlage im Sucher der Funduskamera eingestellt. Sowie die Abstützung und Haltevorrichtung des Kopfes als auch die Fixierung eines Referenzpunktes, den der Proband während der Messung anvisiert, erlauben dabei eine exakte Repositionierung des eingestellten Bildes.

Während des gesamten Messvorgangs wurde darauf geachtet, jegliche Manipulation, wie zum Beispiel das manuelle Aufhalten des Augenlids, am untersuchten Auge zu unterlassen. Intraokuläre Druckschwankungen können dadurch ausgeschlossen werden.

Bei allen Probanden wurde parallel zum gesamten Messzeitraum mit dem Überwachungsgerät „Dinamap[®] TM plus“ der Firma Critikon im 60-

Sekunden-Intervall eine automatische Blutdruckmessung (RR) mit Bestimmung des „Mittleren Arteriellen Drucks“ (MAP) [mmHg] aufgezeichnet und mittels Fingerpulsoxymeter die aktuelle Sauerstoffsättigung [%] und die Pulsfrequenz [min^{-1}] kontinuierlich bestimmt.

Der aus dem Überwachungsgerät erfasste „Mittlere Arterielle Druck“ (MAP) errechnet sich wie folgt:

$$\text{MAP} = \text{RR}_{\text{dia}} + \frac{1}{3} (\text{RR}_{\text{sys}} - \text{RR}_{\text{dia}}) \text{ mmHg}$$

RR_{sys} entspricht dabei dem systolischen, RR_{dia} dem diastolischen Blutdruckwert.

Der Versuchsablauf gliedert sich in zwei Messphasen, der Vor- und der Provokationsphase. Eine schematische Darstellung des Versuchsprotokolls findet sich in Abbildung 9.

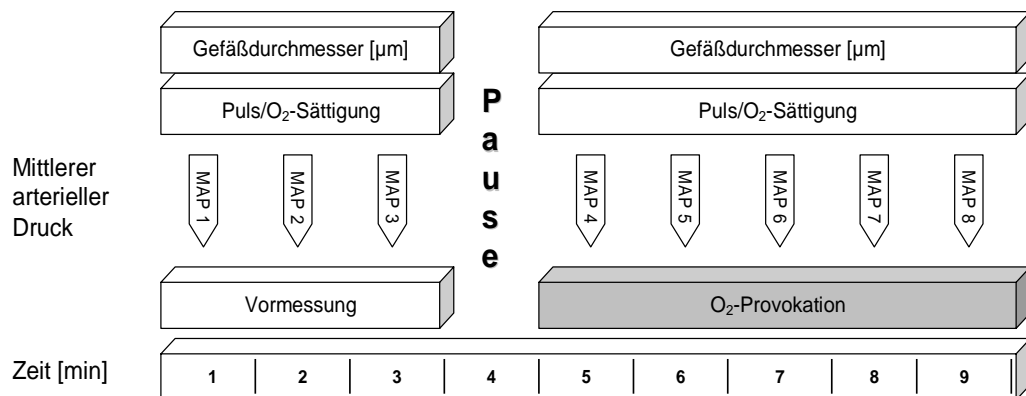


Abbildung 9 – schematische Darstellung des Versuchsprotokolls

In der drei Minuten andauernden Vorphase wurde mit dem Retinal-Vessel-Analyzer (RVA) eine kontinuierliche Gefäßweitenmessung [µm] einer Netzhautarteriole durchgeführt. Das Messfenster wurde dabei 1-2 Papillendurchmesser von der Papille entfernt auf das zu messende Gefäß platziert.

Diese erste Phase der Versuchsabfolge diente zur Erfassung eines Ausgangswertes, dabei wurden die vom RVA ermittelten Daten über drei Minuten gemittelt.

In der darauf folgenden Pause von einer Minute wurde dem Probanden die Atemmaske angelegt. Die Nasenatmung wurde durch eine Nasenklemme verhindert.

Mit Beginn der 5-minütigen Provokationsphase wurde nun 100%-iger Sauerstoff durch die Atemvorrichtung geleitet. Ab diesem Zeitpunkt wurde von dem gleichen Gefäßabschnitt aus der Vorphase die Vasoreaktion über den gesamten Verlauf der Provokation erfasst. Dabei wurde die maximale Vasoreaktion in jeder der vier aufgeführten Patientengruppen durch Mittelwertbildung und der Berechnung der Standardabweichung ausgewertet. Die erhobenen Gefäßdurchmesser wurden über diesen Zeitraum von jeweils 60 Sekunden gemittelt. Die in der 4. bzw. 5. Minute bestehende Gefäßreaktion wurde auf den Ausgangswert in Prozent Veränderung berechnet. Dieses Provokationsverfahren entspricht der den in der Literatur an Normalprobanden geschilderten Provokationsverfahren (Blum et al. 1999, Blum et al. 2001).

Unmittelbar nach der Messung wurde der Augeninnendruck nochmals gemessen.

6.2.3. Statistische Auswertung

Unter der Beratung und Anleitung des Instituts für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena erfolgte die Auswertung der hier gewonnenen Daten und Ergebnisse. Verwendet wurde das Programm SPSS[®] in der Version 12.0.1 und das Programm Microsoft[®] Excel 2002.

Alle gewonnenen Daten wurden für jeden Probanden der vier Gruppen identisch ausgewertet.

Für den Vergleich der Messergebnisse der Ausgangsphase zur Provokationsphase wurde ein verteilungsunabhängiger Test für zwei verbundene Stichproben genutzt (Wilcoxon-Test).

Zum Vergleich der vier Gruppen wurde zunächst mit einem Mehr-Stichproben-Test (Kruskal-Wallis-Test) festgestellt, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gibt. Anschließend wurden die 4 Gruppen wegen ihrer unterschiedlichen Größe (Gruppe 1: 12 Probanden; Gruppe 2: 8 Probanden; Gruppe 3: 8 Probanden und Gruppe 4: 12 Probanden) mittels α -Adjustierung nach Shaffer verglichen.

Ob eine Korrelation der Vasoreaktion zum gemessenen HbA_{1c}-Wert bzw. zum Patientenalter besteht, wurde mit dem linearen Korrelationskoeffizient nach Pearson überprüft.

7. Ergebnisse

Es wurden 40 Patienten mit Diabetes mellitus anhand der in 6.1. aufgeführten Kriterien in vier Gruppen aufgeteilt und an jeweils einem Auge nach dem in Abschnitt 6.2.2. beschriebenen Versuchsprotokoll untersucht. Alle Probanden erfüllten die unter 6.1. definierten Ein- und Ausschlusskriterien.

Unter allen Probanden waren 18 weiblichen und 22 männlichen Geschlechts. Das Alter lag zwischen 19 und 70 Jahren (Mittelwert: 50,1; Median: 51,5; Standardabweichung: $\pm 12,2$).

7.1. Ergebnisse der Gruppe 1 (Patienten mit Diabetes mellitus ohne Retinopathia diabetica)

Gruppe 1 umfasste 12 Probanden, davon 6 weibliche und 6 männliche. Das durchschnittliche Alter lag bei 44,4 ($\pm 12,3$; Median: 46,5) Jahren. Die klinische Datenbasis ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Nr.	Alter	Geschlecht	Diabetes-Typ	medikamentöse Diabetes-Therapie	Diabetes-dauer [Jahre]	HbA _{1c} [mmol/l]
1	35	m	2	Insulin	1	11,4
2	48	m	2	Insulin	3	9,2
3	35	w	1	Insulin	13	6,2
4	61	w	1	Insulin	20	6,9
5	55	w	1	Insulin	10	8
6	49	w	2	Insulin	2	9,8
7	62	m	2	OAD	8	8,1
8	36	w	1	Insulin	1	6,9
9	40	w	2	OAD	1	4,5
10	19	m	1	Insulin	6	13
11	46	m	1	Insulin	1	15,4
12	47	m	2	OAD	9	9,3

Tabelle 1 – Internistische Daten der Gruppe 1

Die HbA_{1c}-Wert-Einstellung der Gruppe war zum Zeitpunkt der Untersuchung 9,1 ($\pm 3,0$) %. Alle Patienten zeigten eine Vasokonstriktion als Reaktion auf die Sauerstoffatmung nach dem Vergleich der gemittelten 4. bzw. 5. Minute in der Provokationsphase mit der gemittelten 3-minütigen Vorphase als Ausgangswert in Prozent. Die Messdaten der Gefäßweiten dieser Gruppe in den einzelnen Phasen und die resultierende Gefäßreaktion sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Nr.	Gefäßweite, Ausgangswert [μm]	Gefäßweite, Provokation [μm]	Vasoreaktion [%]
1	131,1	118,5	-9,6
2	100,7	98,9	-1,8
3	88,8	80,4	-9,5
4	125,6	122,0	-2,9
5	123,9	119,3	-3,7
6	108,2	100,4	-7,2
7	105,7	104,5	-1,1
8	104,4	99,4	-4,8
9	93,5	85,2	-8,9
10	108,1	92,2	-14,7
11	108,7	100,7	-7,4
12	97,4	94,5	-3,0

Tabelle 2 – Gruppe 1: Gefäßweiten der Ausgangs- bzw. Provokationsphase und Vasoreaktion

Im Durchschnitt lag die Vasokonstriktion der retinalen Arteriolen bei -6,2 ($\pm 4,0$) %. Die durchschnittliche Gefäßweite der gemessenen Arterien betrug in der Ausgangsphase 108,0 ($\pm 13,0$) μm , in der Provokationsphase 101,3 ($\pm 13,1$) μm . Die Veränderung des Gefäßkalibers von der Ausgangs- zur Provokationsphase ist im statistischen Vergleich (Wilcoxon-Test) signifikant ($p = 0,002$).

Die folgende Abbildung der Änderung der Gefäßweite von Ausgangsphase zur Provokationsphase ist im Boxplot-Diagramm (Box-and-Whiskers-Plot), Abbildung 10, dargestellt. Der Strich innerhalb der Box kennzeichnet den

Median, die untere Grenze der Box das 25 %-Perzentil und die obere Grenze das 75 %-Perzentil, so dass die mittleren 50 % der Werte innerhalb der Box liegen. Die ober- und unterhalb der Box stehenden Querstriche geben den größten und kleinsten Wert an, der nicht als Ausreißer oder Extremwert bezeichnet werden kann.

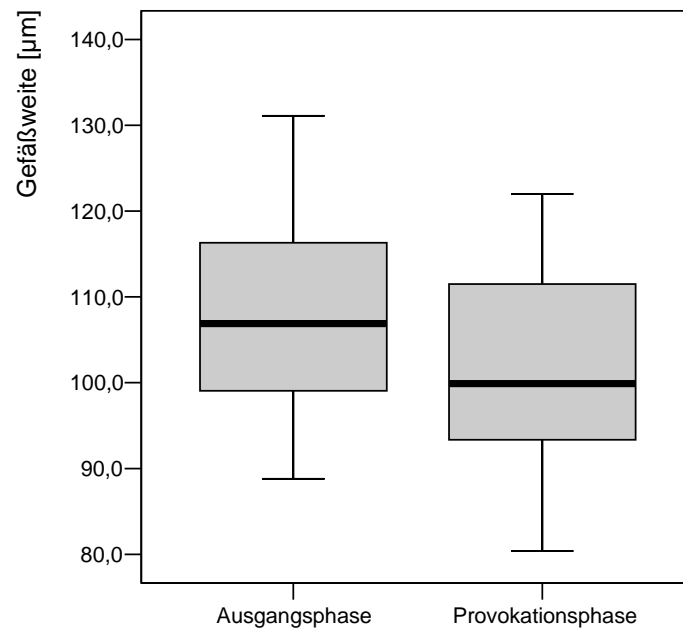


Abbildung 10 – Gruppe 1: Vasoreaktion als Boxplot

7.2. Ergebnisse der Gruppe 2 (Patienten mit milder bis mäßiger Retinopathie)

Gruppe 2 umfasste 8 Probanden (2 ♀, 6 ♂). Das durchschnittliche Alter lag bei 46,6 ($\pm 13,9$; Median: 51,0) Jahren. Neben Alter und Geschlecht sind weitere internistische Daten in Tabelle 3 aufgeführt.

Nr.	Alter	Geschlecht	Diabetes-Typ	medikamentöse Diabetes-Therapie	Diabetes-dauer [Jahre]	HbA _{1c} [mmol/l]
13	33	w	1	Insulin	22	5,8
14	54	m	1	Insulin	4	5,8
15	60	m	2	OAD	3	10,3
16	48	w	1	Insulin	19	7,6
17	64	m	2	Insulin	11	6,1
18	34	m	2	OAD	20	8,2
19	54	m	2	OAD	14	7,7
20	26	m	1	Insulin	23	10,2

Tabelle 3 – Internistische Daten der Gruppe 2

Der HbA_{1c}-Wert-Einstellung lag bei dieser Gruppe im Durchschnitt bei 7,7 ($\pm 1,8$) %. Auch in dieser Gruppe zeigten bis auf eine Ausnahme alle Patienten eine deutliche Vasokonstriktion auf die Sauerstoffatmung. Die Messdaten der Gefäßweiten in den einzelnen Phasen und die resultierende Gefäßreaktion sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Die Vasokonstriktion in der Provokationsphase lag im Schnitt bei -5,2 ($\pm 3,8$) %. Die durchschnittliche Gefäßweite aller Probanden dieser Gruppe betrug zu Beginn 109,4 ($\pm 16,4$) μm und unter Sauerstoffinhalation 104,0 ($\pm 17,6$) μm . Im Wilcoxon-Test war dieser Unterschied signifikant ($p = 0,017$).

Nr.	Gefäßweite, Ausgangswert [μm]	Gefäßweite, Provokation [μm]	Vasoreaktion [%]
13	104,3	95,6	-8,3
14	113,8	110,0	-3,4
15	97,7	90,9	-7,0
16	94,6	90,0	-4,9
17	122,4	124,5	1,7
18	103,5	92,0	-11,1
19	96,1	92,9	-3,4
20	142,7	135,7	-4,9

Tabelle 4 – Gruppe 2: Gefäßweiten der Ausgangs- bzw. Provokationsphase und Vasoreaktion

Die grafische Auswertung erfolgt analog der vorangegangenen Gruppe im Boxplott in Abbildung 11.

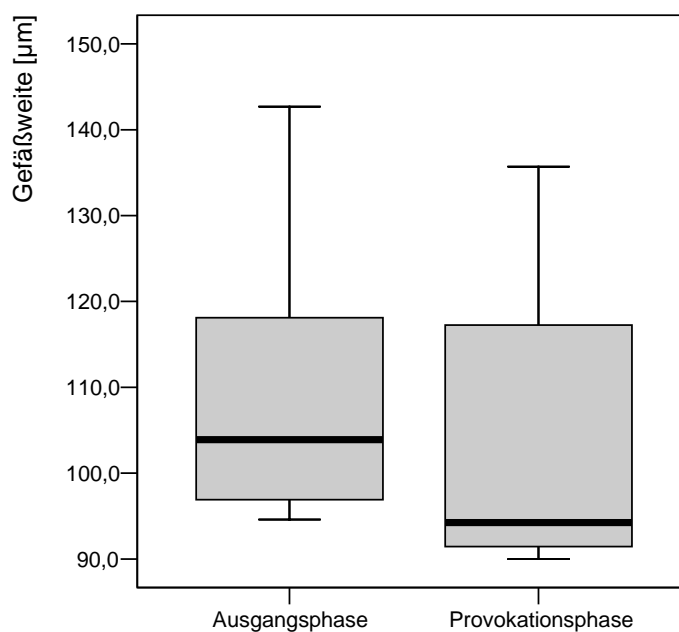


Abbildung 11 – Gruppe 2: Vasoreaktion als Boxplot

7.3. Ergebnisse der Gruppe 3 (Patienten mit mäßiger bis schwerer nichtproliferativer diabetischen Retinopathie)

Die Gruppe 3 umfasste 8 Probanden (3 ♀, 5 ♂). Bei 54,6 (\pm 6,9; Median: 54,5) Jahren lag hier das Durchschnittsalter. Weitere Daten sind in Tabelle 5 zu finden.

Nr.	Alter	Geschlecht	Diabetes-Typ	medikamentöse Diabetes-Therapie	Diabetes-dauer [Jahre]	HbA _{1c} [mmol/l]
21	63	w	2	Insulin	16	5,2
22	63	w	2	Insulin	15	7,9
23	56	w	2	Insulin, OAD	25	9,1
24	59	m	2	Insulin	20	7,3
25	49	m	2	Insulin	14	10,1
26	53	m	2	Insulin	2	8
27	44	m	2	OAD	1	6,5
28	50	m	2	Insulin	11	9

Tabelle 5 – Internistische Daten der Gruppe 3

Der Durchschnitt der HbA_{1c}-Werte lag hier bei 7,9 (\pm 1,6) %. Auch von diesen Patienten zeigten 6 eine deutliche Vasokonstriktion, bei 2 Patienten war keine wesentliche Vasoreaktion auf Sauerstoff messbar. Im Schnitt betrug die Vasokonstriktion -6,7 (\pm 6,8) %. Das durchschnittliche Gefäßkaliber lag während der Anfangsmessung bei 116,7 (\pm 18,3) μ m und nahm in der Provokationsphase einen Wert von 108,5 (\pm 15,8) μ m an. Auch diese Änderung war im statistischen Vergleich signifikant ($p = 0,028$).

In Tabelle 5 sind die Messdaten der Gefäßweiten in den einzelnen Phasen und die resultierende Gefäßreaktion aufgeführt.

Nr.	Gefäßweite, Ausgangswert [μm]	Gefäßweite, Provokation [μm]	Vasoreaktion [%]
21	151,3	140,0	-7,5
22	126,5	107,5	-15,0
23	122,4	104,0	-15,0
24	115,5	113,9	-1,4
25	93,5	93,5	0,0
26	97,7	97,7	0,0
27	106,0	92,4	-12,8
28	120,6	118,7	-1,6

Tabelle 6 – Gruppe 3: Gefäßweiten der Ausgangs- bzw. Provokationsphase und Vasoreaktion

Eine grafische Auswertung der Ausgangs- und Provokationsphase als Boxplott entspricht der Abbildung 12.

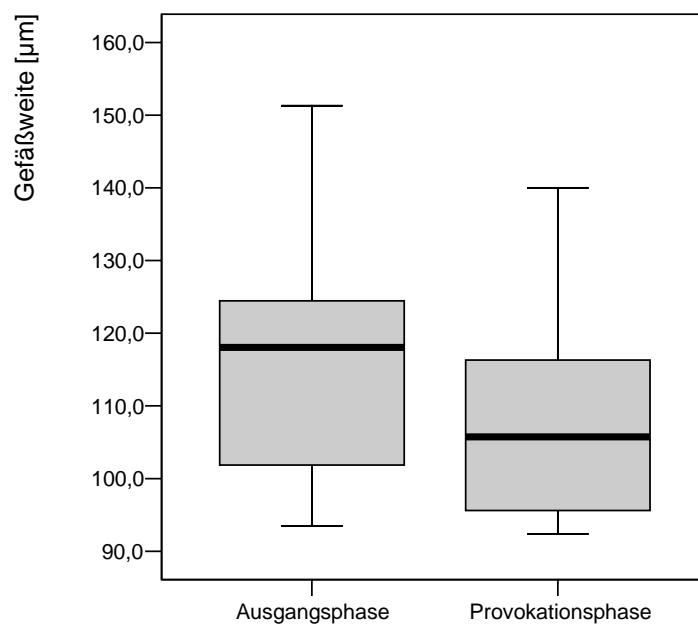


Abbildung 12 – Gruppe 3: Vasoreaktion als Boxplot

7.4. Ergebnisse der Gruppe 4 (Patienten mit proliferativer Form der diabetischen Retinopathie)

Diese Gruppe umfasste 12 Probanden (7 ♀, 5 ♂) mit einem durchschnittlichen Alter von 55,1 (\pm 11,8; Median: 56,5) Jahren. Die klinische Datenbasis ist in nachfolgender Tabelle 7 aufgeführt.

Nr.	Alter	Geschlecht	Diabetes-Typ	medikamentöse Diabetes-Therapie	Diabetes-dauer [Jahre]	HbA _{1c} [mmol/l]
29	55	m	2	Insulin	37	9,1
30	64	w	2	Insulin	15	10,7
31	70	w	2	Insulin	13	9,3
32	37	w	1	Insulin	29	8,8
33	53	m	2	Insulin	23	7,3
34	45	w	1	Insulin	19	8,6
35	34	w	1	Insulin	23	11,6
36	58	m	2	Insulin	16	7,2
37	50	m	2	Insulin	4	8,2
38	65	m	2	Insulin	17	8,5
39	69	w	2	Insulin	20	8,5
40	61	w	2	Insulin, OAD	10	7,1

Tabelle 7 – Internistische Daten der Gruppe 4

Die HbA_{1c}-Wert-Einstellung der Gruppe war zum Zeitpunkt der Untersuchung 8,7 (\pm 1,3) %. Bei diesen Patienten zeigten nur noch 4 Probanden eine milde Vasokonstriktion, die anderen eine Vasodilatation der Arteriole unter Sauerstoffatmung. Im Durchschnitt war eine Vasodilatation von +2,6 (\pm 5,7) % messbar. Zu Beginn des Versuchs lag die durchschnittliche Gefäßweite der gemessenen Arterien bei 118,6 (\pm 18,9) μ m, in der Provokationsphase bei 121,3 (\pm 18,0) μ m. In der statistischen Untersuchung ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,182$).

Die Messdaten der Gefäßweiten dieser Gruppe in den einzelnen Phasen und die resultierende Gefäßreaktion sind in Tabelle 8 aufgelistet.

Nr.	Gefäßweite, Ausgangswert [μm]	Gefäßweite, Provokation [μm]	Vasoreaktion [%]
29	107,9	122,7	13,7
30	137,4	134,3	-2,3
31	106,3	113,6	6,8
32	104,9	105,2	0,3
33	103,3	98,8	-4,3
34	105,5	102,5	-2,8
35	88,8	94,2	6,0
36	128,2	129,9	1,3
37	156,8	149,4	-4,7
38	125,5	128,7	2,5
39	129,2	139,3	7,8
40	129,0	137,3	6,4

Tabelle 8 – Gruppe 4: Gefäßweiten der Ausgangs- bzw. Provokationsphase und Vasoreaktion

In der folgenden Abbildung 13 ist wieder die Änderung der Gefäßweite von Ausgangsphase zur Provokationsphase als Boxplot-Diagramm dargestellt.

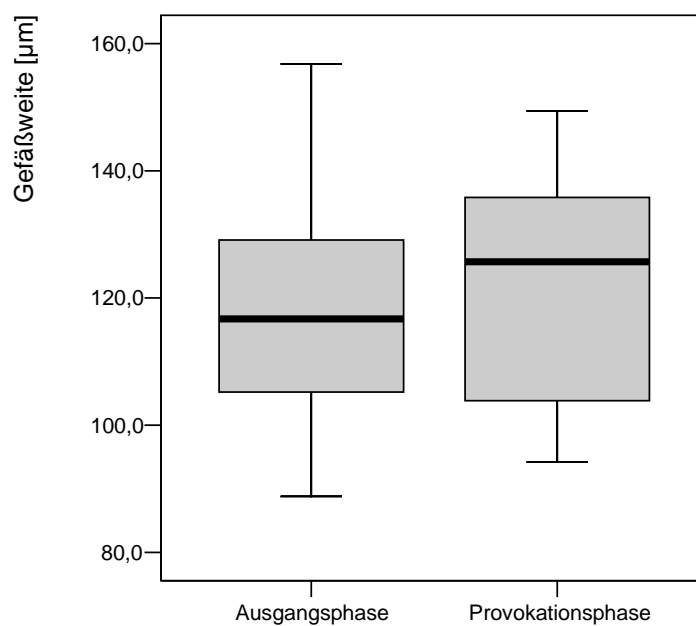


Abbildung 13 – Gruppe 4: Vasoreaktion als Boxplot

7.5. Gruppenvergleich

In den Gruppen 1 – 3 war im Durchschnitt eine Vasokonstriktion der gemessenen Arteriolen unter Sauerstoffprovokationen zu verzeichnen. In der Gruppe 4 mit Patienten, welche eine proliferative Form der diabetischen Retinopathie hatten, war im Durchschnitt eine Vasodilatation messbar.

Der statistische Vergleich der Vasoreaktionen aller vier Gruppen wurde mit einem Mehr-Stichproben-Test erhoben, ob signifikante Unterschiede vorliegen. Der Kruskal-Wallis-Test, der hierbei zugezogen wurde, ist die nichtparametrische Entsprechung der einfaktoriellen Varianzanalyse und erkennt Unterschiede in der Lage der Verteilung. Dieser Test erstellt dazu eine gemeinsame Rangordnung der Werte der verschiedenen Stichproben und testet anschließend die Nullhypothese, dass die mittleren Rangzahlen in den Gruppen gleich sind.

Der statistische Vergleich der vier Gruppen mit dem Kruskal-Wallis-Test zeigte einen p-Wert von 0,0025.

Im statistischen Vergleich nach Mann-Whitney zeigten die Vasoreaktionen zwischen den Gruppen 1 – 3 keine signifikanten Unterschiede. Erst in Gruppe 4 mit proliferativer diabetischer Retinopathie war eine signifikant schlechtere Reaktion auf 100% Sauerstoffatmung nachweisbar:

Gruppe 4 versus Gruppe 1: $p = 0,0008$

Gruppe 4 versus Gruppe 2: $p = 0,002$

Gruppe 4 versus Gruppe 3: $p = 0,012$

Diese Signifikanz blieb auch nach der α -Adjustierung der Signifikanzschranken zwischen Gruppe 1 und 4 erhalten. Die grafische Darstellung der Vasoreaktionen der vier Gruppen als Boxplot-Diagramm findet sich in Abbildung 14.

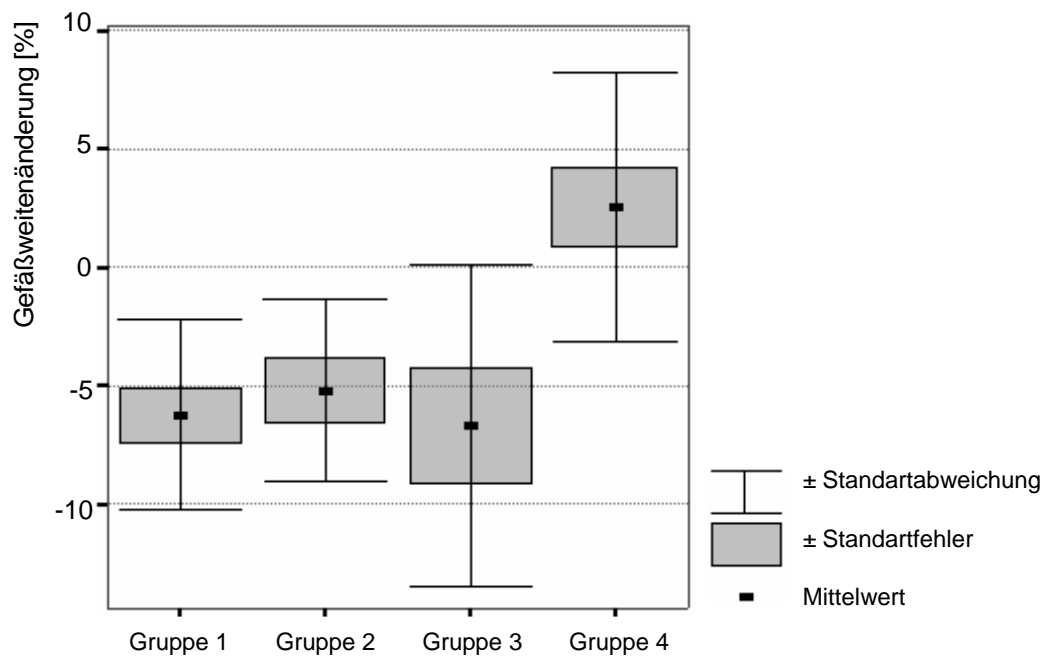


Abbildung 14 – Vasoreaktion aller Gruppen als Boxplot

7.6. Korrelation zu Alter und HbA_{1c}-Wert-Einstellung

Mit dem linearen Korrelationskoeffizienten nach Pearson wurde die Veränderung der Gefäßweiten unter Sauerstoffprovokation auf eine Korrelation zum Alter der Probanden bzw. zum erhobenen HbA_{1c}-Wert überprüft.

Alter

Bei Berechnung der Vasoreaktion zum Patientenalter zeigte sich eine signifikante Korrelation $R = 0,43$ ($p = 0,003$). Die Abbildung 15 zeigt diesen Zusammenhang grafisch.

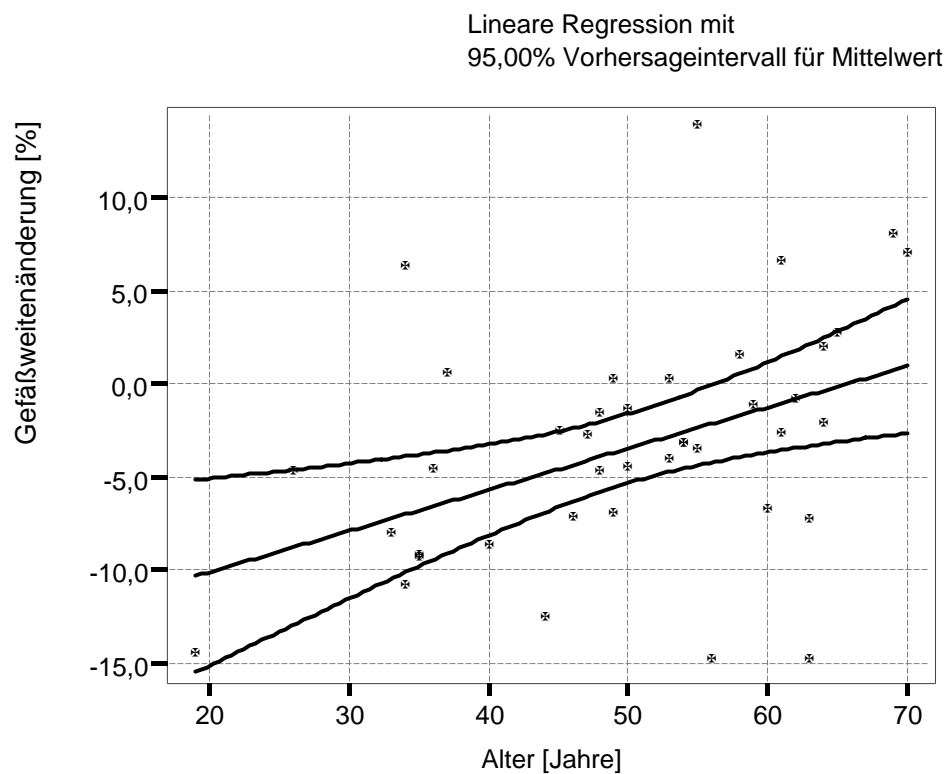


Abbildung 15 - Korrelation des Alters zur Vasoreaktion

HbA_{1c}-Wert

Bei der Berechnung der Korrelation der Gefäßweitenveränderung zum HbA_{1c}-Wert als Langzeitparameter der Blutzuckerstoffwechsellaage, der zum Zeitpunkt der Messung erhoben wurde, ließ sich kein Bezug herstellen. Der R-Wert betrug 0,001 ($p = 0,425$). Dies veranschaulicht Abbildung 16.

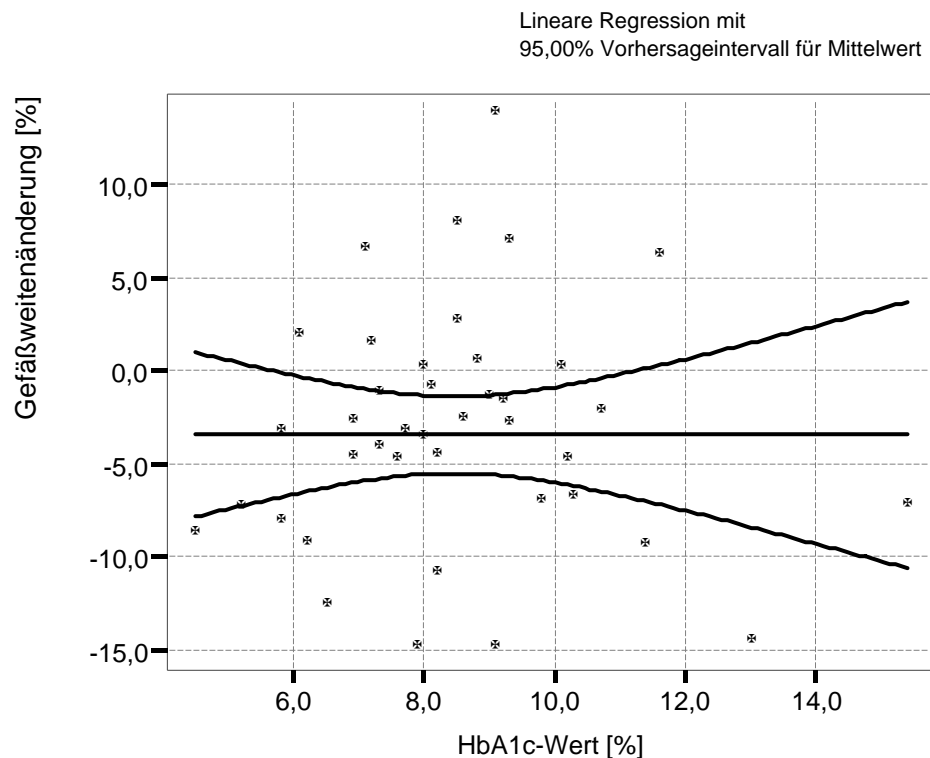


Abbildung 16 – Korrelation des HbA_{1c}-Wertes zur Vasoreaktion

7.7. Blutdruck und Augennendruck

Während der Messung, insbesondere während der Provokationsphase mit Sauerstoff, traten keine signifikanten Blutdruck- bzw. MAP-Schwankungen auf. Ebenso wurden keine signifikanten Änderungen des Augennendrucks beobachtet.

8. Diskussion

8.1. Gerätetechnologie zur Untersuchung der retinalen Hämodynamik

Das Auge erlaubt als einziges menschliches Organ eine direkte Beobachtung der Durchblutung in vivo.

In der Medizin existieren eine Vielzahl ophthalmologischer Geräte und Untersuchungstechniken unterschiedlichster Messprinzipien, die die okuläre Hämodynamik erfassen können. Die wesentlichen Messgrößen der Mikrozirkulation sind neben der Blutgeschwindigkeit und dem Blutfluss die arterio-venöse Kreislaufzeit und der Gefäßdurchmesser. Doch keine der bisher entwickelten und klinisch erprobten ophthalmologischen Messtechnologien vermag derzeit sämtliche Parameter in einem Messdurchgang zu erheben.

Jedes Messverfahren kann hinsichtlich der Invasivität, der Einsetzbarkeit in der klinischen Praxis, dem Bedienungskomfort, der Validität und der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bewertet werden. Unter Berücksichtigung dieser Forderungen soll die in dieser Arbeit verwendete Messmethode des Retinal-Vessel-Analyzer kritisch mit den bereits bestehenden Gerätetechnologien verglichen und bewertet werden.

Im Folgenden soll zunächst eine Übersicht zu den bisherigen Untersuchungsmethoden hinsichtlich retinaler Hämodynamik und deren Beeinflussung einerseits durch Atemgase und Atemgasgemischen als Mess-Provokationsverfahren und andererseits durch das Krankheitsbild des Diabetes mellitus gegeben werden.

8.1.1. Gefäßweitenbestimmung mittels Fundusfotografie

Eine der ältesten Methoden zur Gefäßweitenmessung und Beurteilung der okulären Hämodynamik stellt die Mikrometrie dar.

1931 bedienten sich Haessler und Squier vergrößerten Augenhintergrund-Fotografien zur Bestimmung der Gefäßdurchmesser (Haessler und Squier 1931).

Mit dieser konventionellen Methode konnte bereits 1963 der vasokonstriktorische Einfluss der Hyperoxie auf retinale Gefäße dargestellt werden (Hickam 1963). Ein Jahr später konnte man die autoregulatorische Reaktion retinaler Gefäße auf Inhalation von Sauerstoff und Karbogendioxid nachweisen (Frayser und Hickam 1964). Dieselbe Methode konnte später in Kombination mit dem Indikator Fluoreszein nicht nur unter Sauerstoffatmung eine Vasokonstriktion zeigen, ferner erfasste diese Technik die retinale Kreislaufzeit und die Sauerstoffsättigung unter verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken (Frayser et al. 1967).

Wegen der unscharfen Trennung von Erythrozytensäule und Plasmarandzone in den auf den Fotografien abgebildeten und zu vermessenden Gefäßen, ist die beschriebene Methode der Mikrometrie problembehaftet (Bulpitt et al. 1970), das sich besonders in den Ergebnissen von Reproduzierbarkeitsmessungen mit enormen Schwankungen zwischen 5% bei dem gleichen Untersucher (Hodge 1969) und bis zu 11% bei verschiedenen Untersuchern (Delori et al. 1988) auswirkt.

Ein wesentlich objektiveres und weniger zeitaufwendiges Messverfahren stellte Behrendt im Jahre 1966 vor: die Densiometrie kann mit Hilfe eines Fotomultipliers unterschiedliche Lichtintensitäten auf Fotonegativen detektieren (Behrendt 1966).

Die rechnerunterstützte Analyse der Fundusfotografien brachte neben einem hohen apparativen Aufwand auch langwierige, dem Patienten kaum zuzumutende Untersuchungsphasen unter hoher Lichtexposition mit sich.

Es soll betont werden, dass die bisher vorgestellten Methoden lediglich eine Momentaufnahme der Gefäßdurchmesser präsentieren; eine Dynamik der Gefäßregulierung kann nicht erfasst werden.

8.1.2. Die Fluoreszenzangiografie

Bei der Fluoreszenzangiografie werden die Netzhautgefäße mittels eines intravenös applizierten Indikatorfarbstoffes (Fluoreszein) dargestellt.

1961 gelang es Novotny und Alvis die angefärbten Netzhautgefäße fotografisch abzubilden (Novotny und Alvis 1961), was okuläre Durchblutungsstudien zuließ. Dabei wurden Bilderfolgen erstellt.

1965 wurde erstmals an Normalprobanden die retinale Durchblutungszeit von $4,7 (\pm 1,1)$ Sekunden mittels Fluoreszein erfasst (Hickam et al. 1965). Ferner konnte der Effekt der Vasokonstriktion und der verlängerten retinalen Durchblutungszeit nach hyperbarer Sauerstoffatmung nachgewiesen werden (Frayser et al. 1967).

Mit der Fluoreszenzangiografie demonstrierte Kohner im Jahre 1975 eine signifikante Reduktion des retinalen Blutflusses bei Patienten mit Diabetes mellitus, die das Stadium einer milden Retinopathie aufwiesen, im Vergleich zu gesunden Probanden (Kohner et al. 1975).

Eine weitere Verbesserung stellte die direkte fluorometrische Messmethodik dar, deren Messung nicht mehr auf angefertigten Fotografien durchgeführt werden musste (Niesel und Gassmann 1972) und in Kombination mit einer Zeiss-Funduskamera (Riva et al. 1978) die retinale Blut-Zirkulationszeit erfassen konnte (Eberli et al. 1979).

Mit dieser Methode konnten Blair 1982 und Yoshida 1983 in Studien mit Diabetikern die signifikante Zunahme der retinalen Blut-Kreislaufzeit in Abhängigkeit der Progression der diabetischen Retinopathie beweisen (Blair et al. 1982, Yoshida et al. 1983). Ein Nachteil dieser Messungen bestand in der Methodik, den Bulbus mit einer Kontaktlinse mit Unterdruck zu versehen, durch die der Perfusionsdruck und der intraokulare Druck beeinflusst wurden.

Das Integrieren einer Videokamera in die Messapparatur verbesserte die Methodik hinsichtlich der zeitlichen Auflösung und des Analysierens der dynamischen Gefäßveränderungen. Durch die Videoangiografie konnten nun Parameter wie die Blutflussgeschwindigkeit bestimmter Netzhautabschnitte und die arterio-venöse Passagezeit erhoben werden (Preußner et al. 1983).

Im selben Jahr konnte der Effekt nach Sauerstoff- und Carbogeninhalation (Mischung von 5 Vol.% CO₂ und 95 Vol.% O₂) an retinalen Arterien und Venen im Sinne einer Vasokonstriktion untersucht werden (Deutsch et al. 1983).

Bei Patienten mit einem Typ-1-Diabetes wurde eine Verlängerung der arterio-venösen Passagezeit in Abhängigkeit vom Fortschritt der diabetischen Retinopathie gemessen (Bertram et al. 1991).

8.1.3. Die Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (SLO)

Die Scanning-Laser-Ophthalmoskopie liefert Bilder, die mit der Standard-Videoangiografie vergleichbar sind, allerdings in Kontrast und in der Orts- und Zeitauflösung qualitativ hochwertiger sind (Koenig et al. 1990).

Sie gestattet in Rahmen von Angiografien nicht nur hämodynamische Messungen in makulären und epipapillären Kapillaren, wie etwa die arterio-venöse Passagezeit und die Blutflussbestimmung, zu bestimmen, simultan können auch morphologische Untersuchungen, z. B. Gefäßdurchmesser und Kapillardichtemessungen der Makula, analysiert und definitiv anatomisch zugeordnet werden.

Als Lichtquelle wird ein niedrig energetischer Argon-Laser-Strahl genutzt, der punktförmig die Retina abscannt. Das reflektierte Signal wird digital oder analog mit einem Videorekorder aufgezeichnet. Signal-Intensitätsänderungen in aufeinander folgenden Videoaufzeichnungen erlauben die Messung der Hämodynamik (Wolf et al. 1994). Die geringe Eindringtiefe des Strahles (ca.

30 μm) vermag jedoch nur den laminären Randstrom aufzuzeichnen, nicht jedoch des zentralen Blutstromes, wie etwa mittels Laser-Doppler-Velocimetrie, auf die später eingegangen wird.

Die Messgrößen der SLO stellen ein wertvolles Diagnostikum zur Beurteilung und Differenzierung pathologischer Durchblutungssituationen sowie Verlaufsbeobachtung nach Applikation von Antiglaukomatosa dar.

1992 wies Wolf nicht nur bei Patienten mit einem insulinabhängigen Diabetes mellitus und diabetischen Retinopathie eine deutliche Reduktion der Flussgeschwindigkeit in den retinalen Kapillaren nach (Wolf et al. 1992), auch bei Typ-1-Diabetikern wurde eine Verlangsamung des kapillaren Blutflusses (Arend et al. 1994a), ebenso unter Carbogeninhalation (Arend et al. 1994b), bewiesen.

Die SLO stellt zwar eine Verbesserung der retinalen Angiografie dar, ist aber eine teure Messapparatur und erfordert erfahrene Untersucher. Da keine automatisierte Verarbeitungstechnik vorliegt, ist die Auswertung der Daten zeit- und arbeitsaufwendig. Durch die Darstellung der Gefäße mit Fluoreszein ist diese Methode invasiv.

8.1.4. Die Laser-Doppler-Velocimetrie (LDV)

Die nichtinvasive Laser-Doppler-Blutflussmessung ist eine mit einer Funduskamera gekoppelte experimentelle Untersuchungsmethode, die mittels eines energetisch niedrigen Lasers den Augenhintergrund illuminiert und dessen Reflexion in elektrische Signale umwandelt wird. Da das Laserlicht von sich bewegenden Blutpartikeln reflektiert wird (Doppler-Effekt), findet eine ständige Frequenzänderung statt, die proportional zu deren Geschwindigkeit ist (Green et al. 1983).

Die Geschwindigkeitsbestimmung führt in Kombination mit der konventionellen Mikrometrie zur Errechnung des Blutflusses. Die Analyse der

Gefäßdurchmesser kann nur mit einer zusätzlich in die Messapparatur integrierten Funduskamera erreicht werden. Dabei wird der hintere Pol dokumentiert, projiziert und manuell vermessen, was wiederum eine Fehlerquelle darstellt.

Eine Studie mit Inhalation von reinem Sauerstoff zeigte bei gesunden Probanden eine signifikante Reduktion des Blutflusses um 64,3 % und der Blutflussgeschwindigkeit um 53 % des Ausgangswertes. Zusätzlich angefertigte monochromatische Fundusfotografien demonstrierten eine Vasokonstriktion der retinalen Gefäße um durchschnittlich 12 % (Riva et al. 1983).

Eine ähnliche LDV-Studie führte bei der Inhalation von 100%-igen Sauerstoff an Normalprobanden zu einer signifikant höheren Vasokonstriktion und höheren Blutflussreduktion als bei Inhalation von Carbogen (95 % O₂ und 5 % CO₂) (Pakola und Grunwald 1993).

Patel wies 1992 mit dieser Messmethode an Patienten mit einer Retinopathia diabetica im Vergleich zu Normalprobanden einen signifikant höheren Blutfluss nach (Patel et al. 1992).

Obwohl es sich bei der LDV um eine nichtinvasive Gerätetechnologie handelt, konnte sich dieses Verfahren wegen der komplizierten Handhabung, wie beispielsweise die Schwierigkeit, den Laser genau im Zentrum des Gefäßes zu positionieren, der mangelnden Reproduzierbarkeit der Messungen und die nur ungenaue Bestimmung der Gefäßdurchmessung mittels konventioneller Mikrometrie, noch keine breite klinische Anwendung finden.

8.1.5. Die Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF)

Eine Erweiterung der LDV stellt die ebenso nichtinvasive Laser-Doppler-Flowmetrie dar (Riva et al. 1992).

Auch hier wird ein Laserstrahl auf den Augenhintergrund positioniert und liefert über die Dopplerverschiebung ein Frequenzspektrum, wobei jede Frequenzspitze eine bestimmte Geschwindigkeit repräsentiert. Je größer ein derartiges Maximum ist, desto größer ist die Anzahl der sich bewegenden Blutpartikel, die dadurch einer bestimmten Geschwindigkeit zuzuordnen sind. Dies gestattet eine direkte Messung des Blutflusses.

Nachteilig wirkt sich die variable Eindringtiefe des Lasers in die Netzhaut auf die gewonnenen Daten aus: einerseits würde jedes dem Untersucher makroskopisch nicht sichtbare Gefäß in die Messung miteinbezogen werden und das gemessene Volumen verfälschen, andererseits beeinflussen unterschiedliche Gewebedichte und –transparenz die Laserpenetration mit den daraus variierenden Blutflusswerten.

Das ebenso nichtinvasive Heidelberger-Retinal-Flowmeter (HRF) oder Scanning-Laser-Doppler-Flowmeter vermindert diese Varianz durch die Integration einer konfokalen Optik und einer Einschränkung des optischen Stichprobenvolumens. Es analysiert die Dopplerverschiebung für jeden Retinapunkt in einem 10 x 10 µm großen Messareal, das durch automatisierte Rechengänge direkt ohne aufwendige off-line-Analysen in einer Fluss- und Geschwindigkeitsdarstellung (Kartierung) ausgegeben wird.

Nachteilig bei dieser Messmethode sind die nicht kompensierbaren Artefakte durch Augenbewegungen seitens des Patienten und die unterschiedliche Eindringtiefe des Lasers.

Mit der Technologie des HRF wurden mehrere Studien, insbesondere an Glaukompatienten durchgeführt (Harris et al. 1996).

Daten zur Reproduzierbarkeit der Messungen zeigen eine von der Erfahrung des Untersuchers abhängige Variabilität zwischen 13 und 21 % (Funk et al. 2000).

Untersuchungen mittels HRF an Normalprobanden zeigten nach Carbogeninhalation einen signifikanten Anstieg des retinalen Blutflusses, während sich nach reiner Sauerstoffgabe oder Erhöhung des intraokularen Drucks der Blutfluss reduzierte (Lietz et al. 1998, Haefliger et al. 1999).

In einer anderen Studie konnte mit Flickerlicht eine Erhöhung des retinalen Blutflusses demonstriert werden (Michelson et al. 2002).

Patienten mit Diabetes mellitus wiesen im Vergleich zu Normalprobanden eine signifikante, vom Stadium der Retinopathie abhängige Veränderung des retinalen Blutflusses auf. Messungenauigkeiten wegen mangelnder Compliance der Probanden während der langen Messdauer und Verwacklungen durch Bulbusbewegungen führten dazu, dass nur ein Drittel der Daten ausgewertet werden konnte (Cuypers et al. 2000).

In einer weiteren Studie wurde eine Gruppe (n = 10) von Typ-2-Diabetikern ohne fundusfotografisch erkennbare Veränderungen im Sinne einer Retinopathie mit einer strukturgleichen Gruppe Normalprobanden verglichen. Der retinale Blutfluss zeigte bei den erkrankten Teilnehmern in 5 von 10 Fällen eine Steigerung des Blutflusses. Dies könne als früher Indikator einer Progression der Retinopathie gedeutet werden (Ludovico et al. 2003).

8.1.6. Farbduplexsonografie

Basierend auf den konventionellen Ultraschall und der Aufzeichnung von Dopplerfrequenzen wird bei diesem nichtinvasiven Verfahren neben Gewebebildern der Blutfluss farbig auf einem Monitor dargestellt. Damit können neben den orbitalen Gefäßen auch die Arteria centralis retinae abgebildet und deren maximale Blutflussgeschwindigkeit bestimmt werden (Lieb et al. 1991, Guthoff et al. 1991). Die Reproduzierbarkeit der Messmethode wurden mit Flussmessungen an der Arteria ophthalmica belegt (Tamaki et al. 1993). Ein Vorteil dieser Apparatur ist die beliebig oft

wiederholbare und für den Patienten unbelastende nichtinvasive Messmethodik, nachteilig sind die hohen Anforderungen an den Untersucher.

Es existieren zahlreiche Untersuchungen, die die Farbduplexsonografie zur Bestimmung der hämodynamischen Situation bei Glaukom- und Diabetespatienten nutzten.

Beispielsweise zeigten Normaldruck-Glaukompatienten verringerte systolische Geschwindigkeiten in der Arteria ophthalmica und der Arteria centralis retinae (Durcan et al. 1993, Nicoleta et al. 1997) sowie ein erhöhter Widerstand in den Arteriae ophthalmicae (Butt und O'Brien 1994). Kohlendioxid, ein bekannter Vasodilatator, führte bei Inhalation zwischen jenen Patienten im Vergleich zu Gesunden zu keinem signifikanten Unterschied des Gefäßwiderstandes (Harris et al. 1994).

In einer prospektiven Studie wurden vor und nach Inhalation von Sauerstoff bzw. von Gasgemischen an Normalprobanden duplexsonografisch die Strömungsgeschwindigkeiten und Widerstände in der Arteria centralis retinae und Arteria ophthalmica gemessen. Durch die Inhalation eines Gemisches von 92 % O₂ und 8 % CO₂ lässt sich der Widerstand in der Arteria centralis retinae und der Arteria ophthalmica senken, während er beim gebräuchlichen Carbogen (95 % O₂ und 5 % CO₂) konstant blieb. Bei der Inhalation von reinem Sauerstoff stieg der Gefäßwiderstand an (Schüttauf 1998).

Farbduplexsonografische Studien zur Hämodynamik bei Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zu Normalprobanden zeigten, dass die Erkrankten nicht nur einen signifikant höheren Gefäßwiderstand gegenüber den Gesunden hatten, sondern dass dieser auch mit der Progression der Retinopathia diabetica zunahm (Arai et al. 1998).

In ähnlichen Untersuchungen wurden bei Diabetikern mit einer proliferativen Retinopathie im Vergleich zu Gesunden reduzierte Blutflusswerte in der Arteria ophthalmica ermittelt (Göbel et al. 1994), die ebenso mit dem Fortschreiten der Retinopathie anstiegen (MacKinnon et al. 2000).

8.1.7. Langham-Ocular-Blood-Flowmeter (OBF)

Das von Langham entwickelte Ocular-Blood-Flowmeter misst die auf die IOD-Änderungen basierenden pulsatilen Komponenten des okulären Blutflusses während des Herzzyklusses (Langham 1987). Die Pulswellenamplitude wird mit einem modifizierten Pneumotometer aufgezeichnet, was zur Berechnung der okulären Blutvolumen-Änderung dient. Daraus ergibt sich der okuläre Blutfluss.

Untersuchungen an Diabetikern ohne nachweisbare Retinopathie ergaben im Vergleich zu Normalprobanden eine Reduktion des pulsatilen Blutflusses. Unter dem Krankheitsbild der diabetischen Retinopathie und mit deren Progression zeigten sich erhöhte (Geyer et al. 1999), in einer anderen Studie hingegen erniedrigte pulsatile Blutflüsse (Langham et al. 1991). In einer weiteren Untersuchung wurde bei Typ-I-Diabetikern eine Erhöhung des pulsativen Blutflusses gegenüber Normalprobanden gemessen (Tacke et al. 1994).

Durch das OBF-System konnte keine signifikante Änderung der choroidalen Perfusion in verschiedenen Retinopathie-Stadien bei insulinabhängigen Diabetikern erfasst werden (Schmidt et al. 2000).

OBF-Untersuchungen zeigten bei der Inhalation des Gasgemisches Carbogen (95 % O₂ und 5 % CO₂) einen Anstieg des pulsatilen okulären Blutflusses um 7,7 %, während sich bei reinem Sauerstoff keine Änderung einstellte (Kergoat und Faucher 1999).

Der OBF ist unter klinischen Bedingungen relativ gut einsetzbar. Allerdings wird bei dieser Methode lediglich der pulsatile Blutfluss, der nur einen Teil der okulären Durchblutung repräsentiert, analysiert. Die generelle Übertragbarkeit der damit gewonnenen Aussagen bleibt deshalb fraglich.

8.1.8. Die Okulooszillodynamografie

Bei der 1985 erstmals beschriebenen Okulooszillodynamografie wird der intraokulare Druck durch einen auf der Sklera anliegenden Saugnapf erhöht. Unter erhöhtem Druck werden daraufhin die Oszillationen des Auges gemessen (Ulrich und Ulrich 1985). Die Ergebnisse dieser Technologie sind zwar wegen ihrer Eichung nicht untersucherabhängig, ein breiter klinischer Einsatz ist aber aufgrund der für den Patienten belastenden Provokationsmethode durch den Saugnapf nicht möglich.

8.1.9. Der Retinal-Vessel-Analyzer (RVA)

Mit dem Retinal-Vessel-Analyzer (RVA, Firma IMEDOS[®], Jena) steht ein Gerät zur Verfügung, das es ermöglicht, online und vollautomatisch vom mittels CCD-Kamera erhaltenen Bild des Augenhintergrundes retinale Gefäßdurchmesser reproduzierbar zu messen. Mit dieser Technologie kann der Untersucher definierte Gefäßstrecken über einen ausgewählten Zeitraum fortlaufend vermessen, das heißt, dass neben dynamischen Reaktionen im physiologischen Ablauf der Vasomotorik auch Reaktionen auf unterschiedliche Stimuli direkt erfasst werden können. Die Gerätetechnologie des RVA wurde bereits im Kapitel 6.2.1. vorgestellt.

Mit dem RVA wird als Gefäßweite ausschließlich der Durchmesser der strömenden Erythrozytensäule gemessen, was auf die lichtabsorbierende Eigenschaft des Hämoglobins zurückzuführen ist. Das Gefäß hebt sich demnach in einem Helligkeitsprofil gegen den Augenhintergrund, insbesondere gegen das Pigmentepithel, ab. Der Plasmarandstrom, der sich zwischen Blutzellensäule und der Gefäßwand befindet, sowie die Gefäßwand selbst werden hierbei nicht erfasst. Mittels eines Indikatorfarbstoffes, wie beispielsweise des Fluoreszeins, lässt sich auch temporär der Plasmarandstrom markieren und damit der tatsächliche Innengefäßdurchmesser eruieren.

Die empfindliche Funduskamera benötigt zur Erfassung der Grauwerte nur eine geringe Lichtintensität; eine reflexfreie Darstellung der Netzhautgefäße ist somit möglich. Gerade die reflexfreie Abbildung stellte bei den bisherigen Methoden, bei denen oft starke Helligkeits- und Kontraständerungen auftraten, ein erhebliches Problem dar. So beeinflusst beispielsweise eine hohe Lichtintensität die hämodynamische Reaktion retinaler Gefäße (Tobis et al. 1998). Aufgrund der niedrigen Lichtbelastung des Probanden während der RVA-Messung kann damit ein Störfaktor, der zu Verfälschungen von Messergebnissen führen würde, weitgehend ausgeschlossen werden.

Da der RVA eine integrierte Fehlerüberwachung besitzt, die ständig Bild- und Kantenqualität überprüft, werden unscharfe Bilder, Verwackelungen - wegen der unvermeidbaren kleinen Augenbewegungen der Probanden - und Reflexionen nicht in die Datenanalyse mit aufgenommen.

Zusammenfassend werden also beim RVA zur Bestimmung der Lage der Messmarken aufwendige adaptive mathematische Algorithmen eingesetzt, die Gefäße automatisch erkennen, sich an die individuellen Messbedingungen anpassen können, weitestgehend kontrast- und helligkeitsunabhängig arbeiten, die Schräglage der Gefäße zur Messrichtung erkennen und korrigieren sowie Fehler überwachen und den Messvorgang bei ungenügender Messsicherheit unterbrechen.

Um Fehlerquellen zu vermeiden, müssen wie folgt diverse Voraussetzungen erfüllt werden. Zur Herstellung einer Mydriasis sollten nur nicht vasoaktive Mydriatika angewendet werden. Um einen Einfluss der Lichtexposition auszuschalten, wird der Proband vor Messbeginn mindestens eine Minute dem Messlicht ausgesetzt, was gewöhnlich mit dem Einstellvorgang realisiert wird. Der Helligkeitsregler sollte während der Messung und bei Vergleichsmessungen eine konstante Einstellung aufweisen. Eine Nachführung und Überwachung der Netzhautkamera erfolgt zur Gewährleistung einer zentrischen Pupillenlage und Reflexfreiheit im Bild während des Messvorgangs. Manipulationen am untersuchenden Auge, insbesondere das

Aufhalten des Augenlids, führen zu intraokulären Druckveränderungen und dadurch zu Änderungen im Gefäßverhalten.

Insgesamt führt die in der Gerätesoftware integrierte Fehlerüberwachung zu einer hohen Messgenauigkeit (Vilser 1996), wobei die Reproduzierbarkeit und Sensitivität der RVA-Messergebnisse durch Studien belegt wurden (Polak et al. 2000, Seifert und Vilser 2002).

Der entscheidende Vorteil dieser Gerätetechnologie im Vergleich zu der Vielfalt anderer Messmethoden liegt darin, dass man durch die hohe Messwertdichte (25 Messergebnisse pro Sekunde) über einen beliebig vom Untersucher definierten Zeitraum eine dynamisch und funktionell genaue Abbildung einer Gefäßreaktion erhält, die durch die unbelastende und nichtinvasive Durchführung beliebig oft wiederholbar ist. Nach kurzer Einarbeitungszeit ist die Bedienung des Gerätes möglich.

Eine Messung der Flussgeschwindigkeit und die Errechnung des Blutflusses wie mit der Lasertechnologie sind mit dem RVA nicht möglich. Ebenso kann das RVA keine choroidalen Gefäße wie die Farbduplexsonografie erfassen. Zur Gefäßweitenmessung und damit für die hier vorgestellten Untersuchungen ist der RVA derzeit das bevorzugte Gerät.

8.2. Die Autoregulation der retinalen Blutgefäße

Die Autoregulation des Blutflusses ist ein physiologischer Mechanismus eines Organs oder Gefäßgebietes, sich unter wechselnden Bedingungen anzupassen und einen konstanten Blutfluss aufrecht zu erhalten, um damit einen gleich bleibenden Stoffwechsel zu gewährleisten. Des Weiteren soll diese bei einer Änderung des Stoffwechsels eine adäquate Durchblutung bewerkstelligen.

Diese Steuerung ist die Summe eines Zusammen- oder Wechselspiels unterschiedlicher Mechanismen: myogen über eine direkte Reaktion der glatten Gefäßmuskulatur auf Blutdruckänderungen, metabolisch als Antwort auf lokalchemische Einflüsse von Stoffwechselprodukten, neurogen über perivaskuläre Nervenendigungen sowie über biochemische Substanzen, die vom Endothel des betroffenen Gefäßgebietes gebildet werden und als Vasokonstriktoren bzw. Vasodilatoren fungieren und ebenso auf die glatte Muskulatur der Gefäßwand einwirken (Paulson et al. 1990). Dieses komplexe Netzwerk ineinander greifender Mechanismen reguliert den Strömungswiderstand mittels Änderung des Gefäßradius.

Die Retina ist aus anatomischer Sicht ein vorgelagerter Teil des Gehirns. Damit können viele Steuerungsmechanismen der zerebralen Durchblutung auch auf die retinale Autoregulation übertragen werden. Eine Ausnahme stellt die zerebrale Regulation der Gefäßweite unter Beteiligung der perivaskulären Nerven dar, die an den retinalen Arterien wegen der dort fehlenden Innervation nicht vorhanden sind.

Auf die genaue Steuerung der retinalen Autoregulation soll später eingegangen werden.

8.2.1. Die Messung der retinalen Autoregulation

Die in vivo Beurteilung der retinalen Autoregulation am Menschen konnte erst durch Vermessungen von Fundusfotografien (Hickam et al. 1963, Frayser und

Hickam 1964) und der Einführung der Fluoreszenzangiografie (Hickam und Frayser 1966) in Kombination mit Provokationsverfahren durch unterschiedliche Atemgase und Atemgasgemische realisiert werden. Eine Autoregulation der sichtbaren retinalen Gefäße war mit letzterer Indikatortechnik eindeutig nachweisbar. Mit der Forderung nach einer nicht invasiven Messmethodik steht durch die Einführung des RVA ein Gerät zur Online-Messung von retinalen Gefäßdurchmessern in hoher Präzision zur Verfügung. Eine Messung der myogenen Autoregulation wurde nachgewiesen (Blum et al. 1999).

8.2.2. Einflussfaktoren auf die retinale Autoregulation und Provokationsmethoden

Die retinale Autoregulation kann durch verschiedene Einflussfaktoren und nachfolgend aufgeführte Provokationsmethoden beeinflusst werden.

8.2.2.1. Intraokulare Druck

Am Auge wird die Blutströmung unter anderem durch den intraokularen Druck (IOD) bestimmt. Eine Veränderung dieser Komponente im Sinne einer Provokationsmethode beeinflusst die autoregulative Gefäßantwort. Dieses Prinzip wurde zur Erfassung der retinalen Autoregulation von Riva am Menschen eingesetzt (Riva et al. 1977) und bildet die Basis für die Messmethode der Okulooszillodynamografie (Ulrich und Ulrich 1985). Mit dem Wissen der Einflussnahme des IOD auf die Gefäßweite wurde dieser in der hier vorliegenden Studie vor und nach jedem Versuch applanatorisch bestimmt. Eine direkte Manipulation am Bulbus wurde unterlassen; in keinem Fall konnte eine Änderung des IOD gemessen werden. Somit kann eine Beeinflussung der gemessenen Gefäßreaktion durch Schwankungen im IOD ausgeschlossen werden.

8.2.2.2. Blutdruckerhöhung

Der Blutdruck ist ein Stellglied zur Regulation der Mikrozirkulation. Durch eine Erhöhung des Druckgradienten, beispielsweise durch Applikation entsprechender pharmakologischer Substanzen oder physiologisch über isometrische Belastung, kann eine autoregulative, myogene Gefäßantwort ausgelöst werden.

Studien haben gezeigt, dass bei einem systemischem Blutdruckanstieg auch der Perfusionsdruck in der Arteria ophthalmica steigt während der IOD unbeeinflusst bleibt (Robinson et al. 1986). Eine konstante Flussgeschwindigkeit in den retinalen Kapillaren wurde bei erhöhtem Blutdruck mittels Laser-Doppler-Technik gemessen (Dumskyj et al. 1996), was eine intakte präkapilläre Autoregulation voraussetzt.

Der Einsatz von Pharmaka zur Blutdruckerhöhung als Provokationsmethode ist immer mit einem gewissen Risiko für den Probanden verbunden. Es ist eine invasive Maßnahme, deren Wirkung auf die Gefäße nicht sicher abgeschätzt werden kann.

In den letzten Jahren bedienten sich RVA-Untersuchungen zur Messung der Autoregulation an retinalen Gefäßen unter anderem der Möglichkeit mittels isometrischer Übungen einen Blutdruckanstieg zu provozieren.

In einer Studie am RVA wurden beispielsweise 40 Normalprobanden isometrisch, durch das Ausstrecken einer 1,5 Kilogramm schweren Hantel für drei Minuten belastet, um einen Anstieg des MAP zu erzeugen. Schon während der Belastung zeigten die arteriellen Retinagefäße eine signifikante Vasokonstriktion, die sich nach der Provokationsphase wieder normalisierte (Blum et al. 1999). Durch die Belastung kam es zu einer Sympatikusunervation, welches eine Blutdrucksteigerung zur Folge hatte: der so genannter Bayliss-Effekt – eine Reaktion der glatten Muskelzellen in der Gefäßwand auf Blutdruckanstieg. Da die Netzhautgefäße über keine sympathische Innervation verfügen, ist die Gefäßreaktion an der Netzhaut als

direkte myogene Antwort des Gefäßes auf Druckänderung zu werten. Erstmals war somit eine direkte, nichtinvasive Messung des Bayliss-Effektes am Menschen möglich.

Eine Untersuchung am RVA mit derselben Provokationsmethode verglich eine Gruppe von 20 Normalprobanden mit einer Gruppe von 20 an Diabetes mellitus vom Typ 1 erkrankten Personen („matched pairs“). Es konnte bei gleicher Blutdrucksteigerung mittels isometrischer Belastung eine signifikant schlechtere myogene Gefäßreaktion bei den Erkrankten nachgewiesen werden, wobei weder die Diabetesdauer noch die Höhe des HbA_{1c}-Wertes korrelierten (Blum et al. 2000).

Wiederum am RVA untersuchte eine Studie die myogene Antwort retinaler Gefäße auf Blutdruckerhöhung – provoziert durch isometrische Übungen – bei 40 an Diabetes mellitus erkrankten Personen mit unterschiedlich schwerer Ausprägung einer diabetischen Retinopathie. Die Einteilung der Probanden erfolgte wie in der hier vorliegenden Arbeit anhand des klinischen Erscheinungsbildes der Retinopathie in vier Gruppen. Dabei zeigten die beiden Gruppen der Diabetiker ohne und mit einer milden Retinopathie eine signifikante Vasokonstriktion nach Belastung, während die Gruppen der Diabetiker mit schwerer nichtproliferativer und proliferativer Retinopathie eine signifikante Gefäßerweiterung aufwiesen (Blum et al. 2001). Es kam somit zu einer schrittweisen Verschlechterung der myogenen Gefäßantwort nach Blutdruckprovokation mit Zunahme der Veränderung der diabetischen Retinopathie. Die Messergebnisse zeigten bei dieser Studie weiterhin, dass diejenigen Diabetiker ohne Retinopathie auf Blutdruckerhöhung eine ähnliche Gefäßreaktion hatten, die im Einklang mit den Ergebnissen zuvor gemessener Normalprobanden ohne Erkrankungen unter den gleichen Versuchsbedingungen stehen (Blum et al. 1999). Folglich ist die myogene Antwort retinaler präkapillärer Gefäße bei den an Diabetes mellitus erkrankten Personen ohne Retinopathie als intakt zu betrachten.

8.2.2.3. Blutglukosespiegel

Eine Vielzahl von Studien untersucht den Einfluss des aktuellen Blutglukosespiegels auf den Gefäßtonus und die hämodynamische Funktion arterieller Gefäße.

1983 beschrieb eine Studie an sowohl diabetischen als auch gesunden Hunden unter Hyperglykämie Veränderungen hinsichtlich der Autoregulation von Retinagefäßen (Ernest et al. 1983).

Eine Studie mittel Laser-Doppler-Technologie wies praktisch einen völligen Zusammenbruch der retinalen Autoregulation bei schlecht eingestellten Diabetikern nach (Rassam et al. 1995).

Ein Tierversuch an den isolierten Gefäßen von Laborratten mit hohen Blutzuckerkonzentrationen zeigte eine deutliche Reduzierung des myogenen Tonus zerebraler Gefäße über einen endothelialen Mechanismus (Cipolla et al. 1997).

Eine Untersuchung mit dem RVA analysierte den Einfluss von erhöhten Blutglukosespiegeln auf die Autoregulation retinaler Astarterien an Normalprobanden, wobei während des Messvorgangs eine Blutdrucksteigerung durch isometrische Übungen provoziert wurde. Es zeigte sich bei erhöhtem Blutzuckerspiegel eine signifikant geringere Vasokonstriktion – im Sinne einer schwächeren myogenen Gefäßantwort – auf Blutdrucksteigerung als im Zustand der Normoglykämie (Brändel 2003).

8.2.2.4. Atemgasinhalation

Eine der Studien am RVA mit Sauerstoffprovokation, die der hier vorliegenden Arbeit vorausging, konnte an jeder einzelnen gesunden Versuchsperson in arteriellen und venösen Astgefäßen eine Konstriktion hervorgerufen werden.

Im Gruppenmittel verringerten sich der arterielle Gefäßdurchmesser um 6,5 % und der venöse um 15 % bei Inhalation von reinem O₂ im Vergleich zur Ausgangslage (Lanzl et al. 2000).

An gesunden Probanden konnte am RVA bewiesen werden, dass es alterskorreliert zu einer unterschiedlich stark ausgeprägten Vasokonstriktion der retinalen Gefäße nach reiner Sauerstoffatmung kommt. Die Vasokonstriktion war bei den jüngeren Probanden signifikant höher als bei den Älteren (Blum et al. 2001). Die Alterskorrelation muss beim klinischen Einsatz der Inhalationsprovokation berücksichtigt werden (weitere Ausführungen unter dem Einflussfaktor *Alter*).

Durch die Provokation mittels Atemgas ist eine direkte Analyse der myogenen Komponente der Autoregulation nicht möglich. In den bisherigen Ausführungen wurde deutlich, dass alle Steuerungsmechanismen der Autoregulation in einem komplexen Netzwerk ineinander greifen.

8.2.2.4. Weitere Einflussfaktoren

Lichtbelastung der Retina führt zu messbaren hämodynamischen Reaktionen der Augengefäße (Tobis et al. 1998). Eine RVA-Untersuchung mit Flickerlicht zeigte an Gesunden und an Patienten mit einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus („matched pairs“) unterschiedliche retinale Gefäßantworten: bei den Normalprobanden führte die Provokation zu einer signifikanten Durchmesserzunahme der retinalen Arterien während die Erkrankten keine Gefäßreaktion aufwiesen (Garhöfer et al. 2004).

Medikamente, wie beispielsweise kreislaufwirksame Pharmaka (Antihypertensiva) oder die lokale Applikation von Ophthalmika könnten die okuläre Hämodynamik signifikant beeinflussen. Bei klinischen Studien muss eine genaue Medikamentenanamnese erhoben und die systemische Wirkung muss bei der Interpretation der Messergebnisse berücksichtigt werden.

Genussgifte, wie beispielsweise Nikotin oder Kaffee, müssen bei Untersuchungen der okulären Hämodynamik berücksichtigt werden. Eine RVA-Studie wies einen vasokonstriktorisches Effekt der retinalen Gefäße nach Zigarettenkonsum nach (Bachmann et al. 1998). Die Reduktion der Blutgeschwindigkeit unter Nikotin konnte ebenso mit der Laser-Doppler-Technik analysiert werden (Morgado et al. 1994).

Ein weiterer Einflussfaktor, dem die Hämodynamik des Auges unterliegt, ist das *Alter* (Ravalico et al. 1996). Wie schon beschrieben wurde, konnte in einer Pilotstudie mit dem RVA eine alterskorrelierte Abnahme der Vasokonstriktion der retinalen Gefäße nach Sauerstoffprovokation bewiesen werden (Blum et al. 2001): während bei den jüngeren Probanden auf 100%-ige Sauerstoffatmung eine deutliche Vasokonstriktion eintrat, zeigten die Gefäße von älteren Probanden eine signifikant abgeschwächte Reaktion. Dieses funktionelle Ergebnis passt zu den morphologischen Veränderungen, die bei zunehmendem Alter in Form der Arteriosklerose beschrieben werden. Die Altersabhängigkeit der Gefäßreaktion muss bei klinischem Einsatz des Sauerstoffprovokationsverfahrens, so auch hier in der vorliegenden Arbeit, an Patienten berücksichtigt werden, da ansonsten Fehlinterpretationen der Messwerte folgen.

8.2.3. Die Steuerung der retinalen Autoregulation

Sowohl die myogene als auch die metabolische Komponente der Autoregulation konnte mittels RVA-Technologie nichtinvasiv und in vivo gemessen werden. Der myogene Steuerungsmechanismus konnte durch isometrische Belastungsprovokationen erfasst werden und gilt als gesichert (Blum et al. 1999). Die zahlreichen Studien mittels Atemgasinhalation und die Provokation einer Lichtbelastung der Fotorezeptoren nach Dunkeladaptation weisen auf eine metabolische Beeinflussung der Autoregulation hin (Tobis et al. 1998).

So verursacht eine Zunahme des Sauerstoffpartialdrucks im Sinne einer Hyperoxie eine Vasokonstriktion der retinalen Gefäße (Hickam und Frayser 1966, Lanzl et al. 2000, Blum et al. 2001), während ein Anstieg des PCO_2 (Hyperkapnie) eine vasodilatatorische Wirkung besitzt (Lang et al. 1998). Untersuchungen weisen auf eine Steuerung über eine Verschiebung des pH-Wertes hin (Chen und Anderson 1997).

Eine neuronale Komponente der Autoregulation scheint wegen der fehlenden sympathischen Innervation ab der Lamina cribrosa nicht vorhanden zu sein (Laties 1967).

Die Perizyten der Gefäßwand spielen bei der Autoregulation die dominante Rolle, da in den Netzhautgefäßen keine präkapillären Sphinktere existieren. Alle beschriebenen Steuerungsmechanismen wirken als gemeinsamen Zielpunkt auf die Perizyten ein, die letztlich den Blutfluss steuern.

Vasoaktive Substanzen endothelialer Herkunft können sowohl einen vasokonstriktorisches als auch vasodilatatorischen Effekt besitzen.

Als nachgewiesene vasodilatatorische Substanzen, die die retinalen Gefäße beeinflussen, werden in der Literatur neben dem Stickstoffmonoxid (NO) (Haefliger et al. 1992) auch Prostaglandine diskutiert (Cipolla et al. 1997, Pournaras und Tsacopoulos 1990). Der wichtigste, vom gesunden Endothel freigesetzte Vasodilatator, ist das NO. Dessen Freisetzung wird durch strömungsbedingte Scherkräfte oder vasoaktive Faktoren – wie dem Bradykinin und Acetylcholin – freigesetzt. Hyperglykämiezustände inhibieren die NO-Synthetase-Expression (Chakravarthy et al. 1998).

Vasokonstriktorische Effekte auf okuläre Gefäße besitzen das Endothelin (Haefliger et al. 1992) und das aus dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) stammende Oktapeptid Angiotensin II (Weinreb et al. 1985, Wagner et al. 1996).

8.3. Mikrozirkulationsstörungen beim Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht. Dies führt bei Betroffenen zu Hyperglykämien.

Der Anstieg der Blutglukose führt zur Entwicklung von Abnormitäten im Kohlenhydrat-, Protein- und Fettstoffwechsel. Längerfristig können zusätzliche Komplikationen als Ergebnis einer Dysfunktion sowie des Versagens vieler Organsysteme, insbesondere an Blutgefäßen (Mikroangiopathie, Makroangiopathie) und Nervensystem (Neuropathie), auftreten.

Die langfristigen Folgen der Hyperglykämie bestimmen maßgeblich das Fortschreiten der Erkrankung und führen bei ca. 75 % der an Diabetes mellitus Erkrankten zum Tode.

8.3.1. Pathogenese der diabetischen Retinopathie

Insbesondere die retinalen und renalen Gefäße sind von der diabetischen Mikroangiopathie betroffen. Die diabetische Retinopathie ist mit der Makulopathie die häufigste Folgeerkrankung des Diabetes mellitus am Auge.

Gerade zur Pathogenese der Mikroangiopathie existieren zahlreiche Studien, da sie durch ihre Veränderungen an okulären Gefäßen zum klinischen Bild der Retinopathie – neben der Makulopathie die dominierende Augenerkrankung – führen kann. Etwa 2 % aller Diabetiker erblinden an ihr. In Deutschland wird die Zahl der Neuerblindungen pro Jahr auf 4.000 geschätzt (Standl und Willms 1995).

Zu klinischen Bildern und zur Einteilung der Retinopathia diabetica wurde bereits in der Einleitung im Abschnitt 4.4. eingegangen.

Eine detaillierte biochemische Beschreibung zur Pathogenese der diabetischen Retinopathie wird bis heute diskutiert und erforscht. Als sicher kann gelten, dass die Ursache der biochemischen Störungen in der chronischen Hyperglykämie liegt.

So zeigten sich in klinischen Beobachtungen, dass sich in frühen Stadien der Zuckererkrankung der Blutfluss und der Druck sich in den kleinen Gefäßen erhöht (Gundersen 1974, Williams et al. 1988, Zatz und Brenner 1986). Ähnliche Befunde liefern auch Studien an retinalen Gefäßen mittels Laser-Doppler-Technik (Patel et al. 1992). Grund dieser Veränderungen der Hämodynamik soll eine Dysfunktion der endothelialen Zellen sein, die bei Patienten mit einem Diabetes mellitus vom Typ 1 nachgewiesen wurde (Enderle et al. 1998).

Es werden hauptsächlich vier Mechanismen diskutiert, wie die chronische Hyperglykämie zu vaskulären Veränderungen und damit zur diabetischen Retinopathie führt (Joussen et al. 2003):

- die nichtenzymatische Glykosylierung,
- der Polyolstoffwechsel,
- der Hexosaminstoffwechsel und
- die Aktivierung der Proteinkinase C (PKC).

Sowohl die proliferative Form der diabetischen Retinopathie ist durch eine pathologische Angiogenese gekennzeichnet, sondern auch die diabetische Makulopathie und die nichtproliferativen Formen der Retinopathie basieren unter anderem auf einer Dysregulation im Gefäßbereich auf molekularer und zellulärer Ebene. Dabei sind u. a. folgende wesentliche Strukturveränderungen in den retinalen Kapillarwänden bekannt (Hamilton et al. 1996, Kanski 1996):

- endotheliale Dysfunktion,
- eine Verdickung der Basalmembran,
- ein Verlust von Perizyten sowie

- ein Verlust der Endothelzellen,
- die Ausbildung von azellulären Kapillaren und
- das Entstehen von Mikroaneurysmen.

Es ist dabei noch unklar, ob die Anomalien primäre Ursache oder Folge von anderen Veränderungen sind.

Ein gesicherter Pathomechanismus ist die nichtenzymatische Glykosylierung: dabei wird Glukose an Proteine und Strukturproteine wie Kollagen und Myelin über Quervernetzungen gebunden (Naumann und Rupprecht 1997). Ebenso werden durch ständige Hyperglykämien die Aldose-Reduktase aktiviert, womit es durch vermehrte Produktion zur Sorbitolanreicherung in den Geweben kommt. Sorbitol vermag die Zytomembran zu durchdringen und führt zu osmotischen Dysregulationen (Ulbig et al. 1993). Die Folge sind Basalmembranverdickungen und Destruktionen der Perizyten.

Als grundlegender Pathomechanismus wird derzeit angenommen, dass durch die chronische Hyperglykämie vermehrt Superoxide in der mitochondrialen Elektronentransportkette entstehen (Joussen et al. 2003). Superoxide inhibieren das Enzym 3-Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase der Glykolyse, wodurch vermehrt Metabolite in den Polyol- und Hexosaminstoffwechsel gelangen. Dieser Zustand aktiviert wiederum die PKC und es entstehen Vorstufen von Glykierungsendprodukten, also irreversibel zuckerquervernetzten Proteinen, die auch „advanced glycation endproducts“ (AGEs) genannt werden (Brownlee et al. 1988).

Insgesamt münden die beschriebenen Mechanismen in oxidativen Stress, zu Veränderungen des Blutflusses, zu einer proinflammatorischen Genexpression, zu Störungen der Zellinteraktion, zu einem Anstieg des „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) etc. (Brownlee 2001).

Die oben erwähnte Proteinkinase C ist ein Modulator von Gefäßpermeabilität und Kontraktilität. Sie reguliert die Wachstums- und Matrixsynthese.

Tierversuche zeigten bei Gabe von PKC-Inhibitoren eine verbesserte Gefäßfunktion unter Hyperglykämie (Feener und King 1997).

VEGF ist als pathogenetischer Faktor bei der nichtproliferativen und proliferativen Form der diabetischen Retinopathie nachgewiesen (Adamis et al. 1994, Murata et al. 1996). Die intraokularen VEGF-Konzentrationen sind bei Patienten mit einer diabetesbedingten Störung der Blut-Retina-Schranke und Neovaskularisationen erhöht (Aiello et al. 1995). VEGF erhöht die Gefäßpermeabilität im diabetischen Auge.

Wie schon beschrieben, besitzt das Stickstoffmonoxid (NO) einen vasodilatatorischen Effekt. Es stammt aus der Endothelzelle und wird durch die endotheliale NO-Synthetase (eNOS) gebildet. Unter erhöhtem Blutzuckerspiegel wird die eNOS-Expression inhibiert (Chakravarthy et al. 1998). Auch unter AGEs ist die eNOS vermindert ausgeprägt. Im Gegensatz dazu steht der Befund, dass VEGF die Expression der eNOS in der diabetischen Retina induzieren soll (Joussen et al. 2003).

Endothelin-1, ein aus 21-Aminosäuren bestehender Vasokonstriktor, wird im Tierversuch an diabetischen Ratten in höheren Konzentrationen nachgewiesen (Chakravarthy et al. 1998). Ebenso wurde eine vermehrte Akkumulation der AGEs an Basalmembranen und eine vasokonstriktorische Endothelin-1-Aktivierung untersucht (Bierhaus et al. 1998).

Die AGEs besitzen eine schädigende Wirkung sowohl auf den Extrazellularraum durch Quervernetzung kollagener Fasern als auch auf die intrazelluläre Matrix. Sie wirken auch direkt schädigend auf die Mitochondrien der Perizyten ein, was zur Apoptose und somit zum Untergang der Zelle führt (Gaenger et al. 2002). Ebenso führt plötzliches Absenken des Glukosespiegels bei Perizyten in Zellkulturen zur Apoptose (Li et al. 1998).

Während histologische Veränderungen im Tiermodell erst nach Monaten einer Hyperglykämie nachweisbar sind, kann man schon nach wenigen Tagen und

Wochen die Hochregulation von Wachstumsfaktoren, wie z. B. VEGF, zeigen (Joussen et al. 2003). Die VEGF-Expression ist zum einen direkt von der Glukosekonzentration abhängig (Shweiki et al. 1995), wird zum anderen aber durch die oben beschriebenen Stimuli beeinflusst.

Von den bisher bekannten Modulatoren der VEGF-Expression (z. B. cAMP, Steroide, PKC-Inhibitoren, Wachstumsfaktoren, Sauerstoff, freie Radikale und Glukose) ist Hypoxie am wirksamsten (Damert et al. 1997, Kuroki et al. 1996). Eine Hypoxie wird im diabetischen Zustand durch Gefäßschädigungen schnell erreicht, wenn man bedenkt, dass das retinale Gefäßsystem, gemessen an seinen Anforderungen und der hohen arterio-venösen Sauerstoffausschöpfung, keine hohe Reservekapazität birgt (Hickam et al. 1963).

Die Hypoxie setzt einen Kreislauf von kapillärer Minderperfusion, Verlust von retinalen Kapillaren, weiterer Hypoxie und Wachstumsfaktor- und Zytokinausschüttung in Gang (Joussen et al. 2003). Das vollständige Zusammenspiel zwischen Hypoxie und Wachstumsfaktoren ist Gegenstand intensiver Forschung. Der hypoxieinduzierte Faktor (HIF-1a) scheint einer der Haupttranskriptionsfaktoren zu sein (Caro 2001). Die Aktivierung von HIF-1a bei der diabetischen Retinopathie induziert die Freisetzung weiterer Faktoren und ist insbesondere mit der VEGF Expression eng verknüpft (Poulaki et al. 2002).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass alle beschriebenen Mechanismen letztlich zu dem Leitbild der „endothelialen Dysfunktion“ führen. Dabei spielen sowohl langfristige Zustände der Hyperglykämie als auch kurzfristige akute Erhöhungen des Blutzuckerspiegels eine Rolle. Allen Einflüssen ist gemeinsam, dass sie direkt oder indirekt oxidativen Stress bedingen, was zu komplexen biochemischen Abläufen in den Zellen mit den beschriebenen Folgen führt.

8.3.2. Morphologische Korrelate zur diabetischen Retinopathie

In etlichen Studien wurde mit unterschiedlichsten Messtechniken eine Vasodilatation der diabetisch veränderten Netzhaut gemessen (Fallon et al. 1986, Grunwald et al. 1986, Kohner et al. 1976).

Eine Untersuchung zeigte eine verlängerte retinale Vasodilatation als Vorstufe eines beginnenden diabetischen Makulaödems (Kristinsson et al. 1997).

Bei schlecht eingestellten Diabetikern konnte ein erhöhter Blutfluss festgestellt werden (Grunwald et al. 1992). Ebenso wurde Mittels Laser-Doppler-Geschwindigkeitsmessung bei Patienten mit ungenügender Blutzuckereinstellung eine praktisch ausgefallene Autoregulation beschrieben (Rassam et al. 1995).

An Patienten mit Diabetes mellitus, die sich therapeutisch einer Laserbehandlung der Retina unterzogen, konnte eine Verbesserung der Blutflussgeschwindigkeiten und der Gefäßdurchmesser nachgewiesen werden (Bertram et al. 1996, Grunwald et al. 1989, Koerner et al. 1990).

8.4. Zuordnung der eigenen Befunde

Die in der vorliegenden Studie an Patienten mit Diabetes mellitus erhobenen Daten stehen in gutem Einklang mit der RVA-Pilotstudie an Normalprobanden (Blum et al. 2001). Diese zeigte eine alterskorrelierte Verlagerung der Gefäßreaktion bei Provokation durch Sauerstoffinhalation: während bei den jüngeren Probanden eine deutliche Vasokonstriktion eintrat, zeigten die Gefäße von älteren Probanden eine signifikant abgeschwächte Reaktion.

Auch an den diabetisch veränderten Gefäßen zeigt sich eine signifikante Korrelation der Vasoreaktion zum Alter der Patienten.

Das Alter scheint die Gefäßantwort auf Sauerstoffprovokation sogar deutlich mehr zu beeinflussen als die frühen Stadien der diabetischen Retinopathie.

Eine signifikante Veränderung der Gefäßantwort ließ sich trotz der eindeutigen morphologischen Veränderungen der Mikrozirkulation erst in der vierten Gruppe – den Patienten mit proliferativer Form der diabetischen Retinopathie – nachweisen.

Bei diesen Probanden konnte keine physiologische Autoregulation festgestellt werden. Die Vasodilatation ist bei ihnen ein Ausdruck der durch die fortgeschrittene diabetische Retinopathie verursachten funktionellen Störung der retinalen Hämodynamik.

Es muss betont werden, dass bei allen 40 Probanden keine Korrelation der Gefäßantwort zu dem zum Zeitpunkt der Messung erhobenen HbA_{1c}-Wert nachgewiesen werden konnte.

9. Schlussfolgerungen

Der messtechnische Zugriff auf die Funktion von Netzhautarteriolen ist mit dem Retinal-Vessel-Analyzer sehr gut möglich.

Es lassen sich durch Sauerstoffprovokation funktionelle Störungen der retinalen Autoregulation bei Patienten mit Diabetes mellitus in verschiedenen Stadien der Retinopathie erfassen.

Es muss betont werden, dass das Alter die Gefäßantwort auf Sauerstoffatmung deutlich mehr zu beeinflussen scheint als die frühen Stadien der Retinopathia diabetica. Eine signifikante Veränderung der Gefäßregulation ließ sich trotz der eindeutigen pathomorphologischen Gefäßveränderungen erst in der Gruppe der Patienten mit einer bereits proliferativer diabetischen Retinopathie nachweisen.

Dieses Ergebnis spricht gegen den klinischen Einsatz des Sauerstoffprovokationsverfahrens in Verbindung mit der Messtechnologie des RVA bei Patienten mit Diabetes mellitus.

Nützlich wäre die Methodik lediglich dann, wenn eine eindeutige Früherkennung von funktionellen Einschränkungen der diabetischen Augengefäße messbar wäre bevor morphologische Veränderungen stattfinden. Dieser Nachweis ist in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht gelungen.

Auch scheint die funktionelle Gefäßantwort auf O₂-Provokation nicht die Blutzuckerkontrolle der vergangenen Wochen widerzuspiegeln. Eine Korrelation der Gefäßreaktion zum aktuellen HbA_{1c}-Wert als Langzeitparameter der Blutzuckerstoffwechsellaage war nicht nachweisbar.

10. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Adamis AP, Miller JW, Bernal MT. 1994. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 114:445-450.
- Aiello LP, Pierce EA, Foley ED. 1995. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:10457-10461.
- Alm A, Bill A. 1987. Ocular circulation. In: *Adler's Physiology of the Eye: Clinical Application*. St. Louis: Mosby, 183-203.
- Arai T, Numata K, Tanaka K, Kiba T, Kawasaki S, Saito T, Satoh S, Sekihara H. 1998. Ocular arterial flow hemodynamics in patients with diabetes mellitus. *J Ultrasound Med* 17:675-681.
- Arend O, Harris A, Martin BJ, Holin M, Wolf S. 1994b. Retinal blood velocities during carbogen breathing using scanning laser ophthalmoscopy. *Acta Ophthalmol* 72:332-336.
- Arend O, Wolf S, Remky A, Sponsel WE, Harris A, Betram B, Reim M. 1994a. Perifoveal microcirculation with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 232:225-231.
- Ashton N, de Oliveira F. 1966. Nomenclature of pericytes intramural and extramural. *Br J Ophthalmol* 50:119-123.
- Bachmann K, Blum M, Brändel C, Scherf C, Vilser W, Strobel J. 1998. Der Einfluss von Rauchen auf die retinale Mikrozirkulation. *Ophthalmologe* 95:S143.

- Bachmann K, Voigt E, Blum M, Scherf C, Strobel J. 1999. Beeinflusst Nikotin die retinale Mikrozirkulation? *Ophthalmologe* 96:172.
- Behrendt T. 1966. Scanning densitometer for photographic fundus measurements. *Am J Ophthalmol* 62:689-693.
- Bertram B, Arend O, Moritz A, Wolf S, Remky A. 1996. Retinale Hämodynamik bei diabetischer Retinopathie vor und nach Laserkoagulation. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 208:152-156.
- Bertram B, Wolf S, Fiehöfer S, Schulte K, Arend O, Reim M. 1991. Retinal circulation times in diabetes mellitus type 1. *Br J Ophthalmol* 75:462-465.
- Bierhaus A, Hofmann M, Ziegler R, Nawroth PP. 1998. AGEs and their interaction with AGE-Receptors in vascular disease and diabetes mellitus. *Cardiovasc Res* 37:586-600.
- Blair NP, Feke GT, Morales-Stoppello J, Riva CE, Goger DG, Collas G, McMeel JW. 1982. Pro-longation of the retinal mean circulation time in diabetes. *Arch Ophthalmol* 100:764-768.
- Blum M, Bachmann K, Brändel C, Strobel J. 1999. Einfluss des Blutglukosespiegels auf die myogene Autoregulation der Netzhautarterien (abstract). Hamburg: Regulation und Quantifizierung der okulären Perfusion: IX. Workshop.
- Blum M, Bachmann K, Pietscher S, Bräuer-Burchardt C, Vilser W, Strobel J. 1997. Online-Messung retinaler Arterienäste bei Typ-II-Diabetikern. *Ophthalmologe* 94:724-727.

- Blum M, Bachmann K, Strobel J. 2000. Age-correlation of blood pressure induced myogenic autoregulation of human retinal arterioles in 40 volunteers. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 217:225-230.
- Blum M, Bachmann K, Wintzer D, Riemer T, Vilser W, Strobel J. 1999. Noninvasive measurement of the Bayliss-effect in retinal autoregulation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 237:296-300.
- Blum M, Kubetschka U, Hunger-Dathe W, Bachmann K, Müller UA, Strobel J. 2000. Autoregulation retinaler Arteriolen bei Patienten mit Diabetes mellitus und Normalprobanden. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 216:40-44.
- Blum M, Pils C, Bachmann K, Kubetschka K, Strobel J. 2001. Myogenic response of human retinal arterioles in Diabetic Retinopathy (Abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:480.
- Blum M, Scherf C, Bachmann K, Strobel J. 2001. Alterskorrelierte Kontraktilität retinaler Arteriolen bei Sauerstoffatmung. *Ophthalmol* 98:265-268.
- Brändel C. 2003. Einfluss des Blutglukosespiegels auf die myogene Autoregulation retinaler Arteriolen am Menschen (Dissertation). Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Bresnik GH. 1986. Diabetic macular edema. A review. *Ophthalmology* 93:989-997.
- Brownlee M, Cerami A, Vlassara A. 1988. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metab Rev* 4:437-451.
- Brownlee M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813-820.

- Bulpitt CJ, Dollery CT, Kohner EM. 1970. The marginal plasma zone in the retinal microcirculation. *Cardiovasc Res* 4:207.
- Butt ZA, O'Brien C. 1994. Use of color Doppler imaging to assess ocular blood velocity in low tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:S1255.
- Caro J. 2001. Hypoxia regulation of the gene transcription. *High Alt Med Biol* 2:145-154.
- Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, McAuley E, Archer DB. 1998. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products. *Diabetes* 47:945-952.
- Chen Q, Anderson DR. 1997. Effect of CO₂ on intracellular pH and on contraction of retinal capillary pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:643-651.
- Cipolla MJ, Porter JM, Osol G. 1997. High glucose concentrations dilate cerebral arteries and diminish myogenic tone through an endothelial mechanism. *Stroke* 28:405-411.
- Cuypers MH, Kananardjo JS, Polak BC. 2000. Retinal blood flow changes in diabetic retinopathy measured with the Heidelberg scanning laser Doppler flowmeter. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 238:935-941.
- Damert A, Ikeda E, Risau W. 1997. Activator-protein-1 binding potentiates the hypoxia-inducible factor-1-mediated hypoxia-induced transcriptional activation of vascular-endothelial growth factor expression in C6 glioma cells. *Biochem J* 327:419-423.
- Delori FC, Fitch KA, Feke GT, Deupree DM, Weiter JJ. 1988. Evaluation of micrometric and microdensitometric methods for measuring the width

of retinal vessel image on fundus photographs. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 226:393-399.

Deutsch TA, Read JS, Ernest JT, Goldstick TK. 1983. Effects of oxygen and carbon dioxide on the retinal vasculature in humans. *Arch Ophthalmol* 101:1278-1280.

Dumskyj MJ, Eriksen JE, Doré CJ, Kohner EM. 1996. Autoregulation in human retinal circulation: Assessment using isometric exercise, Laser-Doppler velocimetry, and computer-assisted image analysis. *Microvas Res* 51:378-392.

Durcan FJ, Flaharty PJ, Digre KB, Lundergan MK. 1993. Use of color Doppler imaging to assess ocular blood flow in low tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34:S1388.

Eberli B, Riva CE, Feke GT. 1979. Mean circulation time of fluorescein in retinal vascular segments. *Arch Ophthalmol* 97:145-148.

EDTRS-Group, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group. 1991. Results and summary. *Ophthalmology* 98:S739-S840.

Enderle MD, Benda N, Schmuelling RM, Haering HU, Pfohl M. 1998. Preserved endothelial function in IDDM patients, but not in NIDDM patients, compared with healthy subjects. *Diabetes Care* 21:271-277.

Ernest JT, Goldstick TK, Engerman RL. 1983. Hyperglycemia impairs retinal oxygen autoregulation in normal and diabetic dogs. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24:985-989.

Fallon TJ, Chowienczyk P, Kohner EM. 1986. Measurement of retinal blood flow in diabetes by blue-light entoptic phenomenon. *Br J Ophthalmol* 70:43-46.

- Feener EP, King GL. 1997. Vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Lancet* 350:9-13.
- Frayser R, Hickam JB. 1964. Retinal vascular response to breathing increased carbon dioxide and oxygen concentrations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 3:427-431.
- Frayser R, Saltzman HA, Anderson B, Hickam JB, Sieker HO. 1967. The effect of hyperbaric oxygenation on retinal circulation. *Arch Ophthalmol* 77:265-269.
- Friedman E, Smith TR, Kuwabara T. 1964. Retinal microcirculation in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 3:217-226.
- Friedmann E, Smith TR. 1965. Estimation of retinal blood flow in animals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 4:1122-1128.
- Funk J, Muller-Velten R, Ness T. 2000. Measuring retinal circulation with the Heidelberg retinal flowmeter: reproducibility of data and no effect of metipranolol in normal probands. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 217:263-268.
- Funk RHW. 1995. Die Anatomie und Physiologie der Blutversorgung des Auges. Durchblutungsstörungen am Auge. Bücherei des Augenarztes, Band 134, Stuttgart: Enke Verlag, 1-14.
- Gaenger H, Neumayr G, Marschang P, Sturm W, Lechleitner M, Foger B, Kirchmair R, Patsch J. 2002. Effect of insulin therapy on endothelium-dependent dilation in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 89:431-434.
- Gaethgens P. 1980. Flow of blood through narrow capillaries. *Biorheology* 17: 183-189.

- Garhöfer G, Zawinka C, Resch H, Kothly P, Schmetterer L, Dorner GT. 2004. Reduced response of retinal vessel diameters to flicker stimulation in patients with diabetes. *Br J Ophthalmol* 88:887-891.
- Geyer O, Neudorfer M, Snir T, Goldstein M, Rock T, Silver SM, Bartov E. 1999. Pulsatile ocular blood flow in diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 77:522-525.
- Gilmore JP, Cornish KG, Rogers SD, Joyner WL. 1980. Direct evidence for myogenic autoregulation of the renal microcirculation in the hamster. *Circ Res* 47:226-230.
- Göbel W, Lieb WE, Ho A, Sergott RC. 1994. Die Farbduplexsonographie – Ein neues Verfahren zur Untersuchung der orbitalen Gefäße bei Retinopathia diabetica. *Ophthalmologie* 91:26-30.
- Green GJ, Feke GT, Goger DG, McMeel JW. 1983. Clinical application of the Laser Doppler technique for retinal blood flow studies. *Arch Ophthalmol* 101:971-974.
- Grunwald JE, Brucker AJ, Petrig BL, Riva CE. 1989. Retinal blood flow regulation and the clinical response to panretinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 96:1518-1522.
- Grunwald JE, Riva CE, Baine J, Brucker AJ. 1992. Total retinal volumetric blood flow rate in diabetic patients with poor glycemic control. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33:356-363.
- Grunwald JE, Riva CE, Sinclair SH, Brucker AJ, Petrig BL. 1986. Laser Doppler velocimetry study of retinal circulation in diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 104:991-996.
- Gundersen HJG. 1974. Peripheral blood flow and metabolic control in juvenile diabetes. *Diabetologia* 10:225-231.

- Guthoff RF, Berger RW, Winkler PW, Helmke K, Chumbley LC. 1991. Doppler ultrasonography of the ophthalmic and central retinal vessels. Arch Ophthalmol 109:532-536.
- Haefliger IO, Lietz A, Griesser SM, Ulrich A, Schotzau A, Hendrickson P, Flammer J. 1999. Modulation of Heidelberg Retinal Flowmeter parameter flow at the papilla of healthy subjects: effect of carbogen, oxygen, high intraocular pressure, and beta-blockers. Surv Ophthalmol 43:S59-S65.
- Haefliger IO, Flammer J, Lüscher TF. 1992. Nitric oxide and endothelin-1 are important regulators of human ophthalmic artery. Invest Ophthalmol Vis Sci 33:2340-2343.
- Haessler FH, Squier TL. 1931. Measurements of retinal vessels in early hypertension. Trans Am Ophthalmol Soc 29:254-262.
- Hamilton AMP, Ulbig MW, Polkinghorne P. 1996. Management of diabetic retinopathy. BMJ Publishing Group, London.
- Hansen L. 1997. Augenheilkunde systematisch. Bremen: UNI-MED-Verlag.
- Harris A, Anderson DR, Pillunat L, Joos K, Knighton RW, Kageman L, Martin BJ. 1996. Laser Doppler flowmetry measurement of changes in human optic nerve head blood flow in response to blood gas perturbations. J Glaucoma 5:258-265.
- Harris A, Arendt O, Wolf S, Cantor LB, Martin BJ. 1995. CO₂ dependence of retinal arterial and capillary blood velocity. Acta Ophthalmol 73:421-424.
- Harris A, Sergotz RC, Spaeth GL, Katz LJ, Shoemaker JA, Martin BJ. 1994. Color Doppler analysis of ocular vessel blood velocity in normal tension glaucoma. Am J Ophthalmol 118:642-649.

- Hauner H, Koster I, von Ferber L. 2003. Prevalence of diabetes mellitus in Germany 1998-2001. Secondary data analysis of a health insurance sample of the AOK in Hessen/KV in Hessen. Dtsch Med Wochenschr 12:2632-2637.
- Hayreh SS. 1962. The ophthalmic artery. III. Branches. Br J Ophthalmol 46:212-247.
- Henkind P. 1967. Radial peripapillary capillaries of the retina. Br J Ophthalmol 51:115-123.
- Herold G. 2003. Innere Medizin - Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Auflage des Jahres 2003. Köln: Gerd Herold Verlag.
- Hickam JB, Frayser R, Ross J. 1963. A study of retinal venous blood oxygen saturation in human subjects by photographic means. Circulation 27:375-385.
- Hickam JB, Frayser R. 1966. Studies of the retinal circulation in man. Circulation 33:302-316.
- Hickam JB, Frayser R. 1965. A photographic method for measuring the mean circulation time using fluorescein. Invest Ophthalmol Vis Sci 4:876-884.
- Hodge JV, Parr JC, Spears GFS. 1969. Comparison of method of measuring vessel widths on retinal photographs and the effect of fluorescein injection on apparent retinal vessel caliber. Am J Ophthalmol 68:1060-1068.
- Hogan MJ, Feeney L. 1963. The ultrastructure of the retinal blood vessels. II. The small vessels. J Ultrastr Res 9:29-46.

- Hogan MJ, Feeney L. 1963. The ultrastructure of the retinal blood vessels. I. The large vessels. *J Ultrastr Res* 9:10-28.
- Hollwich F. 1988. Augenheilkunde: ein kurzgefaßtes Lehrbuch. 11. Auflage. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag.
- IFdA, Initiativgruppe Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen. 1994. Empfehlungen - Report Nr. 1: Stadieneinteilung und Lasertherapie der diabetischen Retinopathie und Makulopathie. Heidelberg: Dr. R. Kaden Verlag GmbH.
- Inoue M, Tsukahara Y. 1997. Vascular optic neuropathy in diabetes mellitus. *Jpn J Ophthalmol* 41:328-331.
- Johnson PC. 1968. Autoregulatory responses of cat mesenteric arterioles measured in vivo. *Circ Res* 22:199-212.
- Joussen AM, Fauser S, Krohne TU, Lemmen KD, Lang GE, Kirchhof B. 2003. Diabetische Retinopathie. Pathophysiologie und Therapie einer hypoxieinduzierten Entzündung. *Ophthalmologe* 100:363-370.
- Kanski JJ. 1996. Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. 2., überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart, New York: Thieme-Verlag.
- Kergoat H, Faucher C. 1999. Effects of oxygen and carbogen breathing on choroidal hemodynamics in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:2906-2911.
- Klein R, Klein BE, Moss SE. 1989. The Wisconsin epidemiological study of diabetic retinopathy. *Diab Metab Rev* 5:559-570.
- Koenig F, Timberlake G, Jalkh A, Trempe C, van der Velde F, Coscas G. 1990. Scanning laser ophthalmoscopy. Ist value in macular diseases. *J Fr Ophthalmol* 13:253-258.

- Koerner F, Imobersteg A, Nager G. 1990. Gefäßkalibermessungen bei diabetischer Retinopathie vor und nach Photokoagulation. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 196:354-356.
- Kohner EM, Hamilton AM, Saunders SJ, Sutcliffe BA, Bulpitt CJ. 1975. The retinal blood flow in diabetes. *Diabetologia* 11:27-33.
- Kristinsson JK, Gottfredsdottir MS, Stefánsson E. 1997. Retinal vessel dilatation and elongation precedes diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol* 81:274-278.
- Kuroki M, Voest EE, Amano S. 1996. Reactive oxygen intermediates increase vascular endothelial factor expression in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 100:115-126.
- Kuwabara T, Cogan DG. 1963. Retinal vascular patterns. *Arch Ophthalmol* 69:492-502.
- Lang GE, Harris A, Vilser W, Tobis M, Kageman L, Riemer Th, Lang GK. 1998. A new method analyzing retinal vessel diameter sensitive to small CO₂ changes (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:S268.
- Langham ME, Grebe R, Hopkins S, Marcus S, Sebag M. 1991. Choroidal blood flow in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* 52:167-173.
- Langham ME. 1987. Ocular blood flow and visual loss in glaucomatous eyes. In: Kriegelstein GK, Glaucoma update III. Berlin: Springer Verlag, 58-66.
- Lanzl IM, Witta B, Kotliar K, Vilser W. 2000. Reaktion retinaler Gefäßdurchmesser auf 100% Sauerstoffatmung - funktionelle Messung mit dem Retinal Vessel Analyzer an 10 Probanden. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 217:231-235.

- Latiev AM. 1967. Central retinal artery innervation. Absence of adrenergic innervation to intraocular branches. *Arch Ophthalmol* 77:405-409.
- Leber T. 1865. Über den Verlauf und Zusammenhang der Gefäße am menschlichen Auge. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 11:1-57.
- Lemmen KD, Ulbig M, Bornfeld N, Gerke E. 1997. Stadieneinteilung und Lasertherapie der diabetischen Retinopathie und Makulopathie. Leitlinien der "Initiativgruppe Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen" (IFdA) Report Nr. 2.
- Li W, Liu X, He Z, Yanoff M, Jian B, Ye X. 1998. Expression of apoptosis regulatory genes by retinal pericytes after rapid glucose reduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:1535-1543.
- Lieb WE, Cohen SM, Merton DA, Shields JA, Mitchell DG, Goldberg BB. 1991. Color Doppler imaging of the eye and orbit: Technique and normal vascular anatomy. *Arch Ophthalmol* 109:527-531.
- Lietz A, Hendrickson P, Flammer J, Orgül S, Haefliger IO. 1998. Effect of carbogen, oxygen and intraocular pressure on Heidelberg retina flowmeter parameter 'flow' measured at the papilla. *Ophthalmologica* 212:149-152.
- Ludovico J, Bernardes R, Pires I, Figueira J, Lobo C, Cunha-Vaz J. 2003. Alterations of retinal capillary blood flow in preclinical retinopathy in subjects with type 2 diabetes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 241:181-186.
- MacKinnon JR, McKillop G, O'Brien C, Swa K, Butt Z, Nelson P. 2000. Colour Doppler imaging of the ocular circulation in diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 78:386-389.

- McCarty D, Zimmet P. 1994. Diabetes 1994 to 2010: global estimates and projections. Melbourne: International Diabetes Institute.
- Meves H. 1948. Zur Struktur der Netzhautarterien. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 148:459-467.
- Michaelson IC. 1954. Retinal circulation in man and animals. Thomas, Springfield, Ill.
- Morff RJ, Granger HJ. 1982. Autoregulation of blood flow within individual arterioles in the rat cremaster muscle. Circ Res 51:43-55.
- Morgado, PB, Chen HC, Patel V, Herbert L, Kohner EM. 1994. The acute effect of smoking on retinal blood flow in subjects with and without diabetes. Ophthalmology 101:1220-1226.
- Murata T, Nakagawa K, Khalil A. 1996. The relation between expression of vascular endothelial growth factor and breakdown of the blood-retinal barrier in diabetic rat retinas. Lab Invest 74:819-825.
- Naumann GOH, Ruprecht KW. 1997. Diabetes mellitus. Pathologie des Auges. Band II, 2. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.
- Nicolela MT, Hnik P, Drance SM. 1997. Ocular blood flow measured with scanning laser Doppler flowmeter in normals and glaucoma patients. Invest Ophthalmol Vis Sci 38:276.
- Niesel P, Gassmann HB. 1972. Direkte fluorometrische Untersuchung am Augenhintergrund. Ophthalmologica 165:297-302.
- Novotny HR, Alvis DL. 1961. A method of photographing fluorescence in circulation blood in the human retina. Circulation 24:82-86.

- Pakola SJ, Grunwald JE. 1993. Effects of oxygen and carbon dioxide on human retinal circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34:2866-2870.
- Patel V, Rassam S, Newsom R, Wiek J, Kohner E. 1992. Retinal blood flow in diabetic retinopathy. *Br Med J* 305:678-683.
- Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. 1990. Cerebral Autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 2:161-192.
- Polak K, Dorner G, Kiss B, Polska E, Eichler HG, Schmetterer L. 2000. Evaluation of the Zeiss retinal vessel analyzer. *Br J Ophthalmol* 84:1285-1290.
- Poulaki V, Quin W, Joussen AM. 2002. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1alpha and VEGF. *J Clin Invest* 109:805-815.
- Pournaras CJ, Tsacopoulos M. 1990. The role of prostaglandins in the regulation of the retinal blood flow (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31:S169.
- Preußner PR, Richard G, Darrelmann O, Weber J, Kreissig I. 1983. Quantitative measurement of retinal blood flow in human beings by application of digital image-processing methods to television fluorescein angiograms. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 221:110-112.
- Rassam SMB, Patel V, Kohner EM. 1995. The effect of experimental hypertension on retinal vascular autoregulation in humans: a mechanism for the progression of diabetic retinopathy. *Exp Physiol* 80:53-68.
- Ravalico G, Toffoli G, Pastori G, Crocè M, Calderini S. 1996. Age-related ocular blood flow changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37:2645-2650.

- Riva CE, Feke GT, Ben-Sira I. 1978. Fluorescein eye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234:315-322.
- Riva CE, Grunwald JE, Petrig B. 1986. Autoregulation of human retinal blood flow: an investigation with Laser-Doppler-Velocimetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:1706-1712.
- Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH. 1983. Laser Doppler velocimetry of the effect of pure oxygen breathing on retinal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24:47-51.
- Riva CE, Harino S, Petrig BL, Shonat RD. 1992. Laser Doppler flowmetry in the optic nerve. *Exp Eye Res* 55:499-506.
- Riva CE, Sinclair SH, Grunwald JE. 1977. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21:34-38.
- Robinson F, Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL, Sinclair SH. 1986. Retinal blood flow autoregulation in response to acute increase in blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:722-726.
- Rohen JW. 1964. Das Auge und seine Hilfsorgane. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Band III/4. Morphologie der Retinagefäße.* Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 116-121.
- Sachsenweger M, Hrsg. 1994. *Augenheilkunde.* Stuttgart: Hippokrates-Verlag.
- Schmidt KG, von Ruckmann A, Kemkes-Matthes B, Hammes HP. 2000. Ocular pulse amplitude in diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 84:1282-1284.

- Schüttauf F, Cobet U, Klemenz A, Krause A. 1998. Duplexsonografische Untersuchungen zur retinalen Durchblutung nach Inhalation verschiedener Atemgasgemische. *Ophthalmologie* 95:225-228.
- Seifert BU, Vilser W. 2002. Retinal Vessel Analyzer (RVA) - Design and Function. *Biomed Tech* 47:S678-S681.
- Shweiki D, Neemann M, Itin A, Keshet E. 1995. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:768-772.
- Standl E, Willms B. 1995. Versorgungslage nicht ausreichend. Diabetes und Stoffwechsel 4:289-290.
- Tacke CM, Schradin T, Lang GE, Högel J, Pillunat LE, Lang GK. 1994. Ocular blood flow in insulin dependent diabetic patients (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:S1594.
- Tamaki Y, Naghara M, Yamashita H, Kikuchi M. 1993. Blood velocity in the ophthalmic artery determined by color Doppler imaging in normal subjects and diabetics. *Jpn J Ophthalmol* 37:385-392.
- Tobis M, Vilser W, Lang GE, Riemer T, Lang GK. 1998. Influence of illumination on measurements of retinal vessel diameters (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:S995.
- UKPDS - UK Prospektive Diabetes Study Group In Process Citation. 1998. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352(9131):837-853.
- Ulbis MW, Kampik A, Hamilton AMP. 1993. Diabetische Retinopathie. *Ophthalmologie* 90:197-209.

- Ulrich WD, Ulrich CH. 1985. Okulooszillodynamografie, ein neues Verfahren zur Bestimmung des Ophthalmikablutdruckes und zur okulären Pulskurvenanalyse. *Klin Monatsbl Augenheilk* 186:385-388.
- Vilser W, Riemer Th, Münch K, Kleen W, Strobel J. 1996. Automatic online measurements of retinal vessel diameters. *Invest Ophth Vis Sci* 37:S266.
- Wagner J, Danser AHJ, Derkx FHM, de Jong PTVM, Paul M, Mullins JJ, Schalekamp MADH, Ganten D. 1996. Demonstration of renin mRNA, angiotensinogen mRNA, and angiotensin converting enzyme mRNA expression in the human eye: evidence for an intraocular renin-angiotensin system. *Br J Ophthalmol* 80:159-163.
- Weinreb RN, Sandman R, Ryder MI, Friberg TR. 1985. Angiotensin converting enzyme activity in human aqueous humor. *Arch Ophthalmol* 103:34-36.
- Williams SA, Wasserman S, Rowlinson DW, Kitrey RI, Smaje LH, Tooke JE. 1988. Dynamic measurements of human capillary blood pressure. *Clin Sci* 74:507-512.
- Wolf S, Arend O, Reim M. 1994. Measurement of retinal hemodynamics with scanning laser ophthalmoscopy: Reference values and variation. *Surv Ophthalmol* 38:S95-S100.
- Wolf S, Arend O, Toonen H, Bertram B, Jung F, Reim M. 1991. Retinal capillary blood flow measurement with scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmology* 98:996-1000.
- Wolf S, Arend O, Toonen H, Bertram B, Reim M. 1992. Measurement of retinal micro- and macrocirculation in patients with diabetes mellitus with scanning laser ophthalmoscopy. *Clin Vis Sci* 7:461-469.

Yoshida A, Feke GT, Morales-Stoppello J, Collas GD, Goger DG, McMeel JW. 1983. Retinal blood flow alterations during progression of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 101:225-227.

Zatz R, Brenner BM. 1986. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: the hemodynamic view. *Am J Med* 80:443-453.

11. Anhang

11.1. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Privatdozent Dr. med. M. Blum, der mir jederzeit zur Seite stand und diese Arbeit tatkräftig unterstützte.

Ich danke meiner Freundin Constance Scherf, die mein Interesse an dieser Arbeit weckte und mich in die Gerätetechnologie des RVA einwies.

Mein größter Dank richtet sich an meine Eltern, die mich stets auf dem Weg der beiden Studiengänge begleiteten und immer unterstützten.

11.2. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:
 1. Herr Privatdozent Dr. med. M. Blum als mein Doktorvater und betreuender Hochschullehrer, Chefarzt der Augenklinik am HELIOS-Klinikum Erfurt GmbH,
 2. Frau Constance Scherf, Assistenzärztin der Neurologischen Klinik am HELIOS-Klinikum Erfurt GmbH bei der Geräteeinweisung am RVA,
- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen habe,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen
- und ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Erfurt, am 24. August 2004

Dirk Vollrath, Verfasser